

50X1-HUM

**Page Denied**

Next 5 Page(s) In Document Denied

**ДОКЛАДЫ  
НА ВТОРОМ МЕЖДУНАРОДНОМ  
БИОХИМИЧЕСКОМ  
КОНГРЕССЕ**

**А. И. БЕЛОЗЕРСКИЙ, В. И. БУКИН, В. А. ЭНГЕЛЬГАРТ,  
Х. С. КОШТОЯНЦ, В. И. ОРЕХОВИЧ, А. В. ПАЛЛАДИН,  
Н. М. СИСАКЯН**

*П а р и ж, 1952*

---

**ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР**  
**Москва — 1952**

А. Н. БЕЛОЗЕРСКИЙ

ОБ АНТИГЕННЫХ ФРАКЦИЯХ  
БАКТЕРИЙ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ

*Кафедра биохимии растений  
Московского университета*

---

A. N. BÉLOZERSKI

LES FRACTIONS ANTIGENES  
DES BACTÉRIES DU GROUPE INTESTINAL

*Chaire de biochimie végétale  
de l'Université, Moscou*

---

### ОБ АНТИГЕННЫХ ФРАКЦИЯХ БАКТЕРИЙ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ

В современной литературе особенно много внимания уделяется полному антигену Буавена, как главной, а по мнению многих и единственной, антигенной и иммуногенной фракции бактерий кишечной группы. Однако в литературе имеется ряд указаний на возможность присутствия в бактериальных клетках, кроме полного антигена Буавена, и иных антигенов с недостаточно выясненной еще химической природой.

Изучение антигенных фракций бактерий кишечной группы на примере дизентерийных бактерий Флекснера и Шига привело нас к выявлению новой антигенной полисахаридно-белковой фракции, отличной по своей химической природе от классического полного антигена Буавена.

Полисахаридно-белковые комплексы, выделенные нами из дизентерийных бактерий Флекснера и Шига, характеризовались содержанием 40—45% редуцирующих сахаров, около 5% азота и около 1% фосфора. Характерной особенностью этих комплексов являлось то, что в них белок прочно связан с полисахаридом. На наличие такой прочной связи указывает невозможность отделения полисахарида от белка обычными приемами. Из данных комплексов полисахарид возможно



выделить только после переваривания белка в случае бактерий Флекснера пепсином, а в случае бактерий Шига последовательно пепсином и трипсином.

Сравнительное изучение качественного состава полисахаридов, выделенных из полисахаридно-белкового комплекса и полного антигена одного и того же штамма методом хроматографии распределения на бумаге, показало нам, что оба эти полисахарида различаются качественным составом сахаров.

У бактерий Флекснера в состав полисахарида полисахаридно-белкового комплекса входят глюкозамин, уроновая кислота, глюкоза, рамноза и ксилоза. В состав полисахарида из полного антигена бактерий дизентерии Флекснера входят только глюкозамин, глюкоза и рамноза.

У бактерий дизентерии Шига в составе полисахарида полисахаридно-белкового комплекса имеются галактоза, глюкозамин, уроновая кислота, арабиноза и рамноза, в то время как в состав полисахарида из полного антигена входят галактоза, глюкозамин и рамноза. Эти данные с несомненностью указывают на различие в составе полисахаридов из полисахаридно-белкового комплекса и из полного антигена Буавена. Интересно отметить, что в полисахаридах из полисахаридно-белковых комплексов и в том и в другом случаях обнаружены пентозы, причем у бактерий дизентерии Флекснера ксилоза сопровождается присутствием глюкозы, тогда как у бактерий Шига арабиноза сопровождается присутствием галактозы.

Наличие в полисахаридно-белковых комплексах особых полисахаридов, существование в них прочной связи между белком и полисахаридом и, наконец, сохранение постоянного состава и антигенных свойств под влиянием тех воздействий, которые ведут к деградации полного

антигена, приводят нас к заключению, что полисахаридно-белковые комплексы являются антигенными фракциями, отличными от полных антигенов Буавена.

Нас интересовал вопрос о качестве белка, входящего в состав полисахаридно-белкового комплекса и полного антигена Буавена. Изучение аминокислотного состава производилось нами методом хроматографии распределения на бумаге. На двумерных хроматограммах было найдено 14 аминокислот. Кроме того, белки давали реакцию на триптофан и аргинин, который, видимо вследствие малого содержания, не смог быть обнаружен на двумерной хроматограмме. Установлено было еще присутствие пролина. Таким образом, оба эти белковых компонента содержали не менее 17 аминокислот.

Из этих наблюдений мы делаем вывод, что белковым компонентом полисахаридно-белкового комплекса и полного антигена Буавена у дизентерийных бактерий является сложный белок, а не полипептид, как многие это принимают для белковой части полного антигена.

Мы считаем уместным отметить, что сопоставление двумерных хроматограмм для указанных белков и для цитоплазматических белков показывает различную картину распределения аминокислот. Этот факт указывает на то, что, видимо, в построении антигенных фракций участвуют белки, отличные по своей природе от других белковых фракций клетки.

Подробное изучение состава протоплазмы и антигенных комплексов дизентерийных бактерий Шига в процессе их онтогенетического развития показало нам, что и основные компоненты протоплазмы и антигенные фракции микробной клетки изменяются в процессе ее развития.

Изменения нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов происходят по тем закономерностям, которые в настоящее время хорошо известны для бактериальной клетки. В отношении антигенных фракций нами было установлено, что полисахаридно-белковый комплекс, несомненно, меняясь количественно, претерпевает, видимо, некоторые качественные изменения в полисахаридной части. Что касается полного антигена, то в значительных количествах он появляется только на определенном этапе развития бактериальной клетки.

Нам представляется исключительно важным изучение антигенных фракций микробной клетки именно в процессе ее онтогенетического развития, ибо этот путь даст возможность подойти к пониманию значения этих фракций в жизни бактериальной клетки, что будет представлять интерес не только для бактериологии, но также и для иммунохимии.

**Page Denied**

Next 3 Page(s) In Document Denied

В. П. БУКИН

*Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии Наук СССР, Москва*

ПРОТЕИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ  
ЖИРОРАСТВОРИМЫХ  
ВИТАМИНОВ

---

B. N. BOUKINE

*Institut de Biochimie Bach  
de l'Académie des Sciences de l'URSS, Moscou*

LES COMPOSÉS PROTÉIQUES  
DES VITAMINES  
LIPOSOLUBLES

---

#### ПРОТЕИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЖИРОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ

К настоящему времени имеется огромное число хорошо изученных случаев каталитического поведения витаминов в обмене веществ организма, но ни в одном из них не показано самостоятельное, автономное функционирование витамина в качестве катализатора. Их каталитические функции, как правило, осуществляются путем вхождения специфической химической структуры витамина в состав ферментов и, таким образом, протеидизация является важнейшим условием функционирования витаминов в организме, от чего зависит само проявление их каталитических свойств. Этому обычно предшествуют те или иные изменения и усложнения молекулы витамина, например, образование эфирных, амидных, нуклеотидных и других производных.

Указанные взаимоотношения витаминов с белком изучались и были установлены главным образом для воднорастворимых витаминов. Что касается группы жирорастворимых витаминов, известны лишь отдельные факты их связи с белком, в целом же вопрос остается мало изученным, а вместе с тем неясен и вопрос о механизме их физиологического действия.

Проведенные нами исследования позволили несколько осветить эту область и прийти к заключению,

что судьба жирорастворимых витаминов в организме так же тесно связана с белком, как и воднорастворимых.

Исследования проводились с витамином А на печени рыб и теплокровных животных, с токоферолом на растительных тканях, с витамином и провитамином D на животных и растительных объектах.

Из многочисленных работ по обследованию печени рыб на содержание витамина А вполне отчетливо обнаруживается тот факт, что витамин А совсем не связан или связан в очень малой степени с присутствием запасного жира, но он тесно связан с тканевым жиром, тем жиром, который входит в состав протоплазматических образований и количества которого не подвержены столь сильным сезонным колебаниям или колебаниям в зависимости от места обитания, как это наблюдается в отношении запасного жира.

Это давало косвенное указание на возможную связь витамина А с белком и явилось нитью для дальнейших исследований. Прямые опыты, проведенные нами, подтвердили это предположение.

Путем ступенчатого центрифугирования предварительно измельченной на коллоидной мельнице свежей печени рыб оказалось возможным отделить основную часть жира (около 60%) и лишь небольшую долю витамина А (около 25%). Дальнейшей обработкой остатка петролейным эфиром можно еще несколько повысить выход жира (до 75%) и витамина А (до 33%), но все же основная масса витамина остается сконцентрированной в белковой фракции.

Если эту фракцию подвергнуть мягкому щелочному гидролизу или ферментативному триптическому гидролизу, то по мере его прохождения все более легко отделяется остаточный жир и вместе с ним витамин А, вплоть до количественного выхода. Все это, несомненно,



говорит о связи витамина А с белком, но связь эта непрочна. Ее нарушение возможно не только путем гидролиза, но также путем тепловой денатурации белка и даже простым подсушиванием материала безводным сернокислым натрием, но в последнем случае оно обратимо — при добавлении воды наблюдается восстановление связи витамина с белком.

Сравнительная легкость расщепления и восстановления комплексов вряд ли может говорить о наличии какой-либо химической связи между компонентами. Скорее здесь речь может идти о наличии адсорбционной или ассоциативной связи. Связанная с белком часть витамина, как показали опыты фракционирования путем молекулярной дестилляции, оказалась этерифицированной.

При работе с токоферолом объектом исследования служили листья растений, из которых получались различные белковые фракции как путем высаливания их из отжатого сока сернокислым аммонием, так и путем извлечения белка из плотного остатка растворами солей или слабых щелочей.

Исследование полученных белковых фракций показало наличие во всех них токоферола, причем до 25% его было связано с белком настолько непрочно, что он отделялся при простой обработке эфиром. Остальная часть токоферола более прочно связана с белком и для отделения ее необходима предварительная обработка материала спиртом или протеолитическими ферментами. В составе этой фракции обнаружено до 35% этерифицированного токоферола. Эти и некоторые другие опыты свидетельствуют о наличии в растительных тканях связанного с белком витамина Е.

Сходные результаты получены при изучении про-витамина и витамина D. При извлечении из тканей



белковых фракций слабыми растворами щелочей или растворами солей в экстракт переходило 20—25% белка и почти полностью (86—97%) витамин и провитамин D, а также стеролы. Многократное осаждение и растворение этой фракции путем изменения pH не приводит к потере стеролов и позволяет получить хорошо отмывтый материал для последующих исследований.

Исследование белковой фракции на ее однородность по поведению в электрофоретическом поле показало, что она состоит из двух компонентов; иногда обнаруживаются небольшие количества и третьего компонента.

В соответствии с этим находятся и результаты химических исследований, показавших, что все эти фракции белка связаны со стеролами, но что характер связи различен. Часть стеролов освобождается при обработке эфиром, другая — при кипячении со спиртом и, наконец, третья — лишь при щелочном гидролизе.

Следует, далее, отметить, что соотношения между различными по прочности протейными комплексами не остаются постоянными; они изменяются в процессе онтогенетического развития, а также в зависимости от условий жизнедеятельности организмов. Период интенсивной жизнедеятельности, роста и размножения характеризуется, например у моллюсков, нарастанием комплексов со слабой связью, тогда как в периоде покоя резко возрастает количество прочных комплексов за счет соответствующего уменьшения первых.

При инкубации куриных яиц происходит интенсивное уменьшение стеролов, связанных с белком (в 3—3,5 раза за 12 дней), причем это снижение особенно велико в период, когда эмбрион начинает дышать за счет кислорода наружного воздуха и усваивать кальций скорлупы.

Все это говорит о том, что комплексы витамин —

белок или провитамин — белок не представляют собой какие-то инертные образования; они претерпевают закономерные изменения в связи с жизнедеятельностью организмов и это свидетельствует об их подвижности и функциях в обмене веществ, хотя роль их далеко еще не ясна.

Косвенным подтверждением их значения служит и тот факт, что до 25% белка от общего его содержания оказывается связанным в этих комплексах. Невероятным было бы допущение, что столь большая часть белка выпадает из общего круговорота и не выполняет возможно весьма специфических функций.

Наконец, следует отметить, что вхождение провитамина D в комплексы с белком может изменять характер его фотохимических превращений. Этерификация провитамина D и его связь с белком не мешают переходу в витамин D при облучении ультрафиолетовыми лучами, но если сравнить продукты фотолиза, полученные при одних и тех же начальных концентрациях провитамина и одинаковых сроках экспозиции, то окажется, что в протеидных комплексах доля образующегося витамина D значительно выше и составляет 70—80% суммы фотодериватов вместо обычных 40—45% для растворов чистых провитаминов. Таким образом, мы имеем пример возможности тонкой регуляции фотохимических свойств провитаминов при их соединении с белком.

Доказательства существования протеидных форм жирорастворимых витаминов можно было бы значительно умножить, но и приведенные примеры показывают, что судьба этой группы витаминов так же тесно связана с белком, как и воднорастворимых, и, таким образом, протеидизация является общей формой перестройки в организме всех более или менее изученных в этом отношении витаминов.

**Page Denied**

Next 5 Page(s) In Document Denied

В. А. ЭНГЕЛЬГАРДТ  
Член-корреспондент Академии Наук СССР

*Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии Наук СССР, Москва*

## К ЭНЗИМОЛОГИИ МИОЗИНА

---

V. A. ENGELHARDT  
Membre correspondant de L'Académie des Sciences de l'URSS

*Institut de Biochimie Bach  
de l'Académie des Sciences de l'URSS, Moscou*

## SUR L'ENZYMOLOGIE DE LA MYOSINE

---

### К ЭНЗИМОЛОГИИ МИОЗИНА

Симпозиум, на котором заслушивается настоящее сообщение, посвящен вопросам, связанным с природой и биологической ролью трикарбоксильного цикла. Этот цикл в отношении его биологического значения представляется мощным генератором химической энергии, накапливаемой в форме богатой энергией фосфатных связей, связей «макроэргических». Ряд путей ведет от различных этапов метаболизма к этому циклу, и рассмотрению этих «подводящих путей» уделено внимание в программе симпозиума. Но нас в меньшей степени, чем рассмотрение путей, ведущих к трикарбоксильному циклу, и деталей самого цикла, как такового, должно интересовать изучение тех путей, которые ведут от этого цикла, как генератора энергии, к потребителям этой энергии, к физиологическим механизмам, осуществляющим те или иные физиологические функции. Звеном, которое связывает деятельность трикарбоксильного цикла с наиболее мощной системой, потребляющей генерируемую им энергию, — с мышечной системой, — служит, в свою очередь, циклически функционирующая система соединений, которые вместе с ферментами, участвующими в их превращениях, могут быть обозначены как члены адепидового цикла. Именно через посредство адепидового цикла только и может

осуществлять свое биологическое назначение трикарбоксильный цикл, по крайней мере в отношении процессов мышечного сокращения. Эта тесная взаимосвязанность обоих циклов, вероятно, и побудила организаторов данного симпозиума включить в программу его работ настоящее сообщение, хотя с формальной стороны ферменты, о которых в нем будет идти речь, к самому трикарбоксильному циклу, как таковому, прямого отношения не имеют.

Взаимодействие членов аденилового цикла, носителей макроэргических связей, с материальной основой сократительного механизма мышцы, с ее белками, приводит к обоюдосторонним превращениям вступающих во взаимодействие партнеров. Под воздействием адениловых веществ изменяются механические свойства мышечных белков, а под влиянием мышечных белков, действующих своими энзиматическими свойствами, подвергаются химическим изменениям компоненты аденилового цикла.

Наличие энзиматических свойств у белков, участвующих в образовании сократительного вещества мышцы, мы должны считать фактом, имеющим первостепенное значение для всей той области функциональной биохимии, которая была нами обозначена в свое время как «механохимия» мышцы. Целью моего сообщения будет поделиться некоторыми новыми результатами, полученными в этом направлении в нашей лаборатории, в работах, проводившихся при участии М. Любимовой, Г. Венкстерна, М. Тимофеевой и Ю. Бабской.

Способность миокина — основы сократительной субстанции мышцы — функционировать как фермент и катализировать ту реакцию (расщепление аденозинтрифосфорной кислоты), которую все исследователи считают наиболее непосредственным источником энер-



гии для работы мышечного сокращения, не может рассматриваться в качестве случайности, но имеющей прямого отношения к осуществлению мышечной функции. Мы еще не можем с уверенностью конкретизировать, какова действительная природа связи между энзиматической способностью сократительного вещества мышцы и теми изменениями механических свойств белковой структуры первичного мышечного элемента, которые лежат в основе обеих фаз мышечной деятельности — сокращения и расслабления. Однако, если сравнить имеющиеся к настоящему времени данные, говорящие в пользу допущения существования такой связи, и те возражения (почти всегда совершенно косвенного характера), которые выдвигались против этого взгляда, то преимущество оказывается целиком на стороне первых.

В первой работе (Энгельгардта, Любимовой и Мейтиной), где было обнаружено изменение механических свойств миозиновых нитей под действием аденозинтрифосфата (АТР), было подчеркнуто, что эта реакционная способность нитей утрачивалась по мере того, как снижалась их аденозинтрифосфатазная (АТР-азная) активность, будь то под воздействием ионов серебра, или в результате спонтанных изменений при хранении. Бэйли и Перри установили важность сульфгидрильных групп миозина для его способности реагировать с актином. С другой стороны, Зингер и Баррон нашли, что блокирование сульфгидрильных групп миозина пара-хлормеркуробензоатом лишает миозин его АТР-азных свойств. Таким образом, тут намечается параллелизм утраты способности к образованию актомиозина — этого несомненно важного для механохимии процесса, и утраты миозином энзиматических АТР-азных свойств. Известные указания в этом же смысле дают

опыты Корей на мышечных фибриллах. Наконец, весьма убедительные выводы в пользу значения АТР-азной активности миозина для сократительной функции мышцы делает Вебер на основании своих опытов на нитях и термодинамических данных.

Можно было бы допустить, что параллелизм между механохимическими эффектами и АТР-азной активностью является случайным, если бы этот параллелизм наблюдался в одних случаях и отсутствовал в других. Но когда опыты, столь принципиально различные по своей постановке, все дают о д н о з н а ч и м ы е результаты, то едва ли приходится сомневаться в том, что о какой-либо случайности здесь не может быть речи. Напротив, все говорит в пользу того, что мы тут имеем совершенно определенную закономерность. Поэтому попытки, которые мы встречаем, например, в книге Моммертса и в ряде работ Сцент-Дьердьи, отрицать за АТР-азными свойствами миозина принципиальную значимость — в качестве решающего фактора для осуществления функции мышц представляются неубедительными. Они скорее обусловлены предвзятым подходом их авторов, а не объективным истолкованием экспериментальных фактов.

И говорил до сих пор лишь об одной энзиматической активности миозина — об его аденозинтрифосфатных свойствах. Эти свойства, когда они были нами обнаружены, привлекли к себе большое внимание вследствие того, что обусловленный ими распад аденозинтрифосфата сопровождается весьма значительным энергетическим эффектом. Гораздо меньшее внимание привлекло к себе обнаружение у препаратов миозина еще одного, второго, энзиматического свойства, именно дезаминазной активности, способности дезаминировать аланиновую кислоту.



Заслуга обнаружения этого факта принадлежит Фердману и Нечипоренко из Института биохимии Украинской Академии наук в Киеве. Эти авторы в 1946 г. описали наличие дезаминазы адениловой кислоты (энзима, давно известного под наименованием «дезаминазы Шмидта») в препаратах миозина. Эта активность сохранялась и при многократных пересаживаниях, оставаясь практически неизменной. В 1947 г. Калькар описал приготовление дезаминазы, исходя из препаратов миозина; работа Фердмана и Нечипоренко ему, повидимому, не была известна, и задачи исследования были чисто практическими — использование фермента для аналитических целей. По характеру примененных Калькаром приемов получения дезаминазы можно полагать, что его препараты не отличались существенно от обычных пересаживаемых препаратов миозина. Величина энзиматической активности, приводимая Калькаром, при пересчете оказывается соответствующей активности обычных пересаживаемых препаратов миозина, как мы ее нашли в излагаемых ниже опытах и как это было найдено Херманном и Иосеповичем в 1949 г. в Биохимическом институте университета в Будапеште. Венгерские авторы, подтвердив данные Фердмана и Нечипоренко, пришли к заключению, что дезаминазная активность столь же постоянно присуща препаратам миозина, как и АТР-азная активность. Херманну и Иосеповичу удалось исключить одну из этих двух энзиматических активностей, сохранив вторую: при воздействии параклоромеркуробензоата, блокирующего сульфгидрильные группы, полностью подавляется АТР-азное действие, между тем как дезаминазная активность полностью сохраняется. О попытках препаративного разделения обеих активностей авторы не сообщают.

Как было установлено рядом авторов, препараты миозина при исследовании в ультрацентрифуге или методом катафореза представляются в значительной степени гомогенными. Во всяком случае, получаемые результаты не дают указаний на наличие в этих препаратах каких-либо неизменно присутствующих обособленных фракций, содержащихся в постоянных количествах. Предпринятые нами попытки использовать диаграммы растворимости для суждения о гомогенности или неоднородности наших препаратов натолкнулись на обусловленные своеобразными свойствами миозина затруднения, которые еще не удалось преодолеть. Таким образом, мы не имеем никаких прочно установленных указаний на гетерогенность миозиновых препаратов. Правда, в работах Сцент-Дьердьи и Банга выдвигались утверждения о том, что в этих препаратах имеется целая сложная система, состоящая из какого-то «скелетного» белка и присоединяющихся к нему каких-то «протинов», якобы обладающих необыкновенной способностью сообщать образуемому комплексу разнообразные энзиматические свойства, которых лишены порознь взятые компоненты. Однако, насколько нам известно, эти странные утверждения никем не были подтверждены и должны считаться чисто умозрительными построениями, а не экспериментально обоснованными реальностями.

Естественно возникает вопрос: принадлежат ли указанные выше две энзиматические активности двум отдельным, индивидуальным белкам, или, быть может, мы здесь имеем случай энзиматически поливалентного белка, обладающего одновременно как аденозинтрифосфатазными, так и дезаминазными свойствами. Последнее предположение, хотя и менее вероятное, все же не должно было бы быть отброшено на основании чисто

априорных соображений. В принципе нет оснований отрицать возможность наличия одновременно нескольких каталитических функций у одного и того же белка. Такое допущение облегчило бы ответ на вопрос о том, каким образом в ограниченном количестве клеточного белка «размещается» все огромное число отдельных ферментов. Мысль о существовании каталитически поливалентных белков начинает находить в последнее время некоторую экспериментальную опору. Во-первых, можно было бы взять пример гемоглобина, который обладает по крайней мере двумя каталитическими функциями: как переносчик кислорода и как пероксидаза (хотя и невысокой активности). Весьма интересны появившиеся в самое последнее время сообщения о том, что кристаллическая дегидраза триозофосфата способна катализировать целый ряд превращений ацетилфосфата, действуя в одних случаях как трансацетилаза, в других — повышая реакционную способность фосфатного радикала в обмене с изотопным ортофосфатом или с арзепатом (Хартинг и Велик). С другой стороны, для химотрипсина найдено, что он способен гидролизовать не только амидные, но и сложноэфирные связи, т. е. функционировать и как пептидаза, и как эстераза. Конечно, при обнаружении такого поливалентного действия всегда остается возможность предполагать, что в этих случаях имеется негомогенный препарат, что он представляет собою смесь разных белков, каждый со своими энзиматическими свойствами. Решить вопрос в каждом отдельном случае могут лишь прямые экспериментальные исследования.

Выяснению этого вопроса в отношении указанных выше двух энзиматических функций миозина и посвящены были опыты, результаты которых здесь будут сообщены. Нашей целью было выяснение того, возможно

ли, исходя из обычных препаратов миозина, обладающих как АТР-азным, так и дезаминазным действием, получить такие препараты, которые обладали бы в одном случае только АТР-азной активностью и были бы лишены дезаминазных свойств, и, наоборот, — получить такие препараты, которые обладали бы только дезаминазной активностью и были бы лишены АТР-азных свойств. Решающим при этом мы считали приемы препаративного разделения, а не только исключения той или иной функции действием каких-либо ядов, ибо в этом случае вопрос о наличии двух обособленных белков еще не решается. Как мы увидим из приводимого далее экспериментального материала, указанные цели были достигнуты в обоих направлениях, хотя в количественном отношении в весьма неодинаковой степени. В то время как получить дезаминазу, лишенную АТР-азных свойств, легко удается и иногда почти со 100%-ным выходом начальной активности, получение бездезаминазной АТР-азы значительно труднее и было пока осуществлено лишь с малыми выходами.

Применение для изолирования дезаминазы методов фракционирования сульфатом аммония не давало, судя по результатам, полученным Калькаром, оснований ожидать положительного эффекта. Попытки провести отделение дезаминазы путем фракционирования спиртом или ацетоном также не дали положительных результатов. Дезаминазная активность нацело утрачивалась одновременно с АТР-азной активностью, при воздействии этих агентов, даже при энергичном охлаждении. В этом отношении обе энзиматические активности обнаружили значительное сходство, и могло бы казаться, что они принадлежат одному и тому же белку.

Некоторое разделение могло быть достигнуто путем выдерживания препарата миозина в слабокислой среде. Оказалось, что при рН 4,5 дезаминазная активность утрачивается полностью, при рН 5,8 она еще сохраняется, хотя и снижается примерно на 50%. В то же время АТР-азная активность падает в 5—10 раз. Выпадает довольно значительное количество белка, и если рассчитать активность на миллиграмм белка, то она для дезаминазного действия возрастает, по сравнению с исходной, примерно вдвое.

Весьма эффективным путем для получения дезаминазы, совершенно лишенной аденозинтрифосфатазных свойств, и притом в виде препаратов с активностью на единицу веса белка, во много раз более высокой, нежели исходная, оказалась термическая обработка препаратов миозина. Дезаминазная и АТР-азная активности обнаружили весьма большое различие в отношении термической устойчивости. Крайняя термолабильность АТР-азных свойств миозина была отмечена еще в первом исследовании энзиматических свойств миозина Энгельгардтом и Любимовой. В отличие от этого, дезаминазная активность оказалась несравненно более устойчивой к температурным воздействиям. Она практически полностью сохраняется при нагревании до 50° в течение 5 минут, снижается до 30—40% при 55° и полная инактивация наступает при нагревании до 60° (рис. 1).

При умеренном нагревании происходит коагуляция главной массы белка миозинового препарата, дезаминаза же остается в растворе. В результате этого дезаминазная активность, в расчете на единицу веса белка, возрастает в 5—10 и более раз. АТР-азная активность полностью отсутствует уже в пробе, нагревавшейся до 50°.



Для препаративного получения дезаминазы использовалось нагревание раствора миозина в течение 5 минут при  $53^{\circ}$ . В этих условиях сохраняется от 60 до 90% начальной дезаминазной активности (рис. 2). При этом коагулирует до 90% и более имевшегося первоначально белка. Если принять, что остающийся в растворе белок представляет собою дезаминазу, то, судя

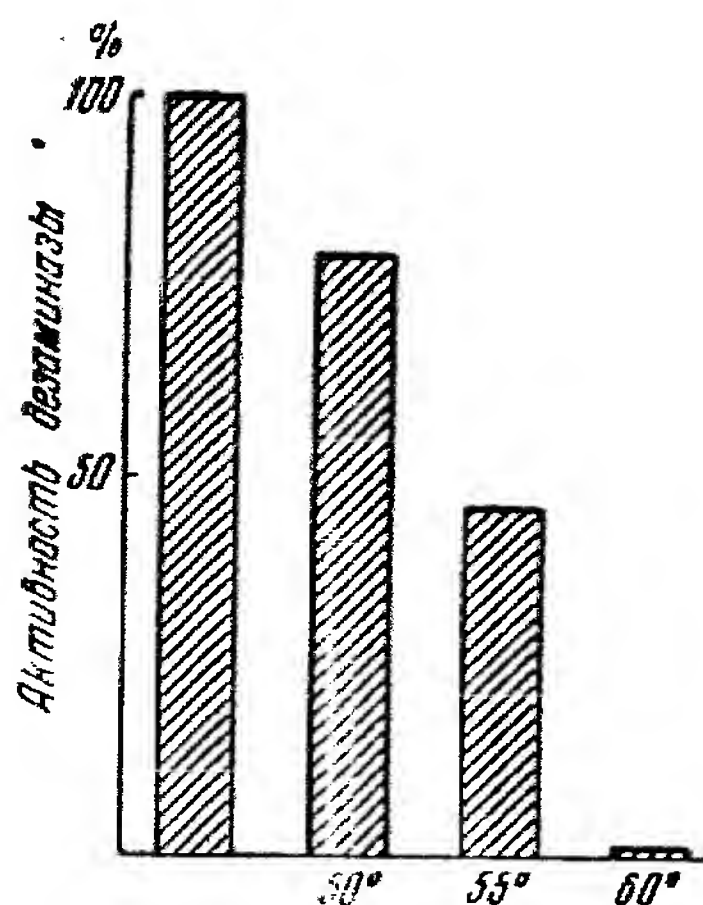


Рис. 1

по результатам опытов, в которых достигалась наибольшая степень чистоты, надо считать, что в обычных препаратах миозина на долю дезаминазы приходится приблизительно 6—10% от общего количества белка.

«Молярная активность» наиболее чистых препаратов дезаминазы, полученных нами, выражается величинами порядка 2000 М субстрата на  $10^6$  г белка в минуту. Это величины того же порядка, что и полученные Энгельгардтом, Саковым и Смирновым, а затем и рядом других авторов (Мейергоф, Кори, Барановский) для кристаллической альдолазы мышц («многоена»).

Отделенная от АТР-азы дезаминаза обнаруживает, как и исходный миозин, свойства глобулина. При непродолжительном диализе она выпадает из раствора. Более продолжительный диализ ведет к весьма значительному снижению активности очищенных препаратов дезаминазы, вплоть до почти полной инактивации. Пока еще остается неясным, является ли это результа-

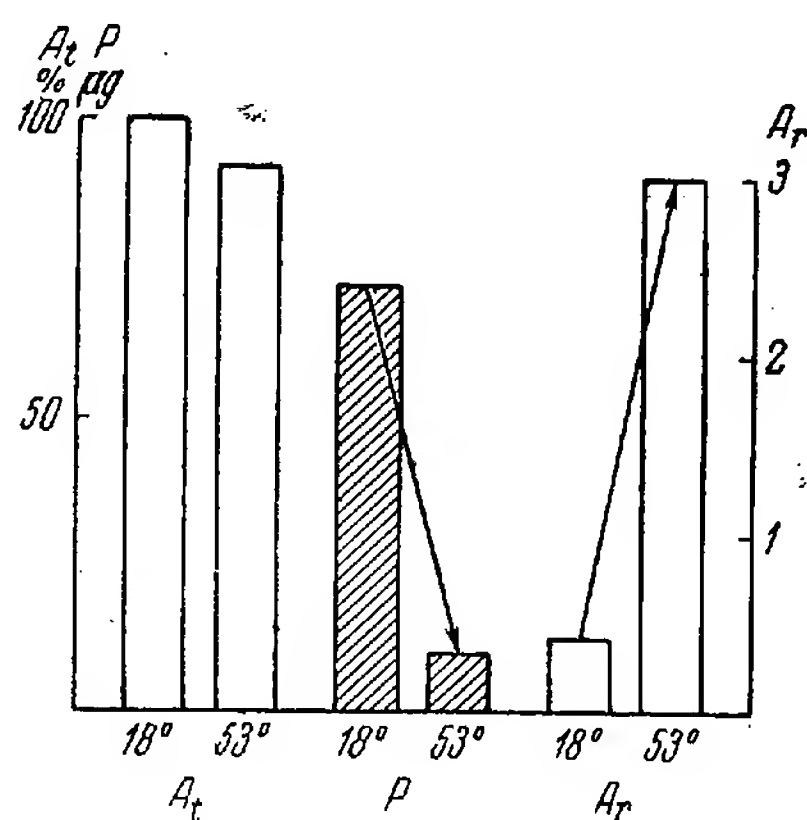


Рис. 2.  $A_t$  — активность общая;  
 $A_r$  — активность на мг белка;  
 $P$  — белок,  $\mu\text{г}/\text{мл}$

том удаления какой-либо простетической группы, содержащейся в дезаминазе и начинающей сильно диссоциировать, когда дезаминаза освобождена из своего природного состояния, т. е. из связи с АТР-азой, или тут какая-либо иная причина.

Вторая задача, которую мы стремились осуществить в наших опытах, — отделить дезаминазу от АТР-азы так, чтобы сохранились АТР-азные свойства, — оказалась значительно труднее осуществимой. В принципе удалось показать возможность получения бездезаминазных препаратов АТР-азы, но лишь с весьма малым

выходом АТР-азной активности по сравнению с начальным количеством ее. Главным препятствием тут является крайняя лабильность АТР-азы, делающая невозможным применение сколько-нибудь энергичных воздействий и ведущая к большим потерям активности даже в процессе наиболее щадящих манипуляций.

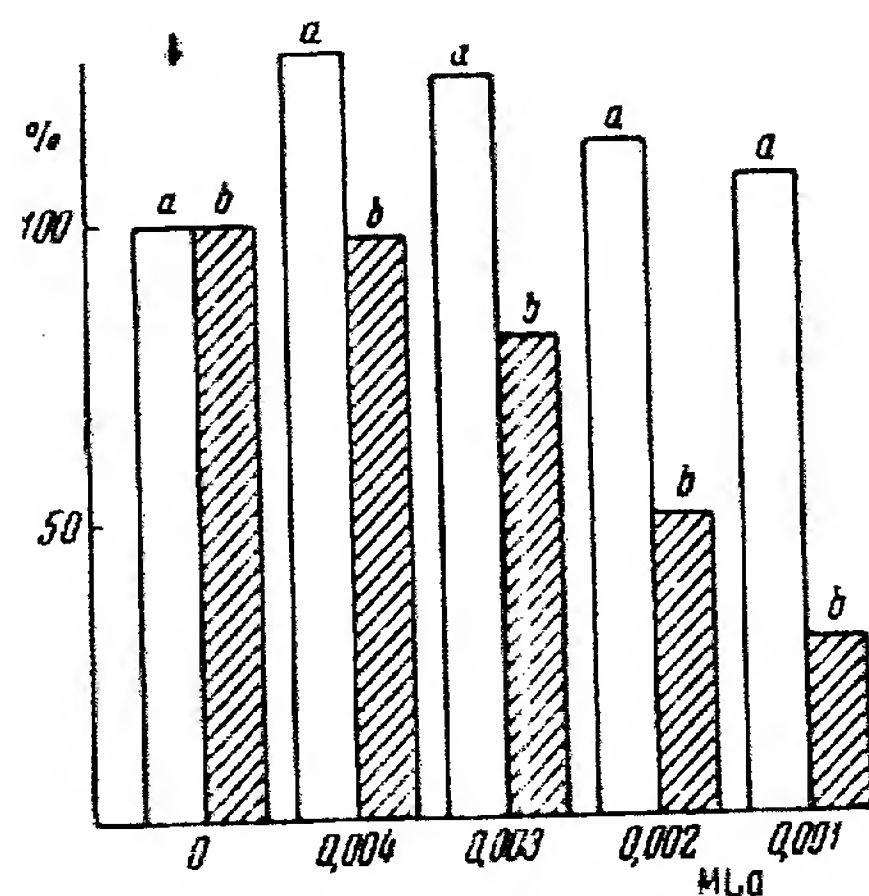


Рис. 3. Энзиматическая активность, на мг белка: *a* — АТР-азная; *b* — дезаминазная

Приемом, который дал нам положительный результат, явилось осаждение препаратов миозина, в очень разведенных растворах, малыми концентрациями солей лантана. Лантан был применен в свое время Мейергофом и Полнсом в их опытах по получению из миозина препаратов с повышенной АТР-азной активностью. Как видно из рис. 3, с понижением концентрации лантановой соли из раствора миозина осаждаются препараты со все меньшим содержанием дезаминазы.

Путем тщательного подбора условий удалось получить препараты АТР-азы, которые имели аденозинтри-



фосфатазную активность при пересчете на единицу веса белка, близкую к таковой исходного миозина, и в то же время показывали лишь следы дезаминазной активности, не превышавшей 5% от исходной величины.

Мы не считаем это получение бездезаминазной АТР-азы успешным с точки зрения препаративной, так как по отношению к исходной суммарной АТР-азной активности выход составляет не более 10%. Тем не менее достигнутые результаты достаточны для демонстрации принципиальной возможности разделения двух энзиматических активностей миозина. Изложенные выше результаты дали также возможность для решения следующего интересовавшего нас вопроса: принадлежит ли способность реагировать с актином обоим энзиматически различным компонентам миозина, АТР-азному и дезаминазному, или же лишь одному из них и, в таком случае, — какому именно.

Опыты вполне однозначно показали, что полученная указанным выше способом безАТР-азная дезаминаза совершенно лишена способности реагировать с актином. Для испытаний брались такие растворы исходного миозина и дезаминазы, которые содержали одинаковое количество белка. Как видно из рис. 4, в то время как раствор исходного миозина при добавлении актина дает характерное повышение вязкости, которая возвращается к исходной величине при добавлении АТР, раствор дезаминазы (с той же концентрацией белка) при добавлении актина показывает вязкость, соответствующую простой смеси обоих компонентов, и добавление АТР никак не влияет на вязкость.

В противоположность этому, раствор бездезаминазной АТР-азы реагирует с актином точно так же, как раствор исходного миозина той же концентрации; в обоих случаях происходит практически совершенно

одинаковое возрастание вязкости и возвращение ее к исходной величине под действием АТР (рис. 5). Следовательно, способность реагировать с актином присуща той части миозинового комплекса, которая является носителем аденозинтрифосфатазных свойств.

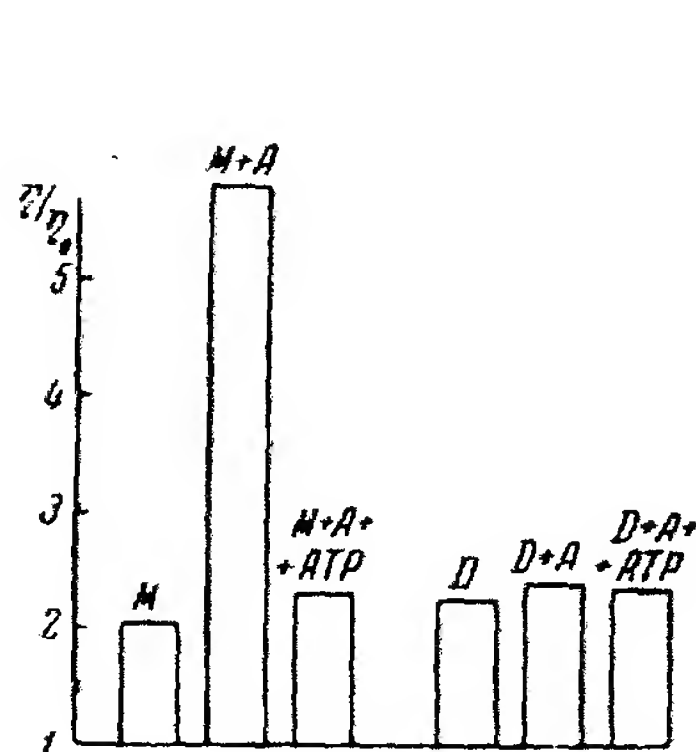


Рис. 4. *M* — исходный миозин; *A* — актин; *D* — дезаминаза

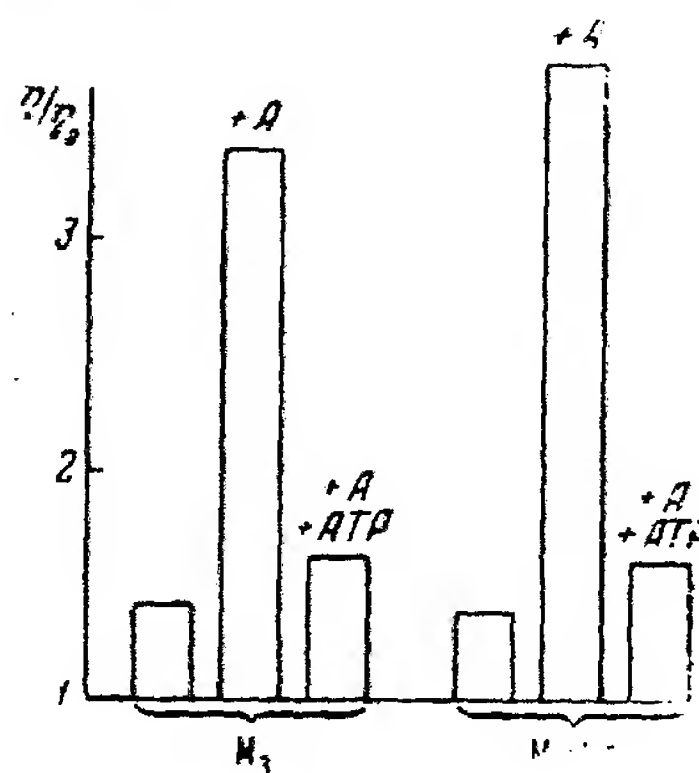


Рис. 5. *M*<sub>2</sub> — миозин трижды пересаживаемый; *M*<sub>La</sub> — АТР-аза, выделенная лантаном; *A* — актин

Когда настоящая работа уже была закончена, появилось краткое сообщение Сцент-Дьердьи мл., в котором изложены результаты, принципиально полностью согласующиеся с только что приведенным нашим заключением, но полученные совершенно иным способом: при обработке препаратов миозина трипсином способность реагировать с актином обнаруживается у той фракции, которая сохраняет АТР-азную активность, и отсутствует у фракции, не имеющей этой активности.

Можно добавить, что при фотохимическом окислении миозина в присутствии метиленовой сини, которое

сопровождается значительным снижением АТР-азной активности, одновременно существенно снижается и способность реагировать с актином, как это можно видеть на рис. 6.

Ограничивая этим экспериментальный материал, который имелось в виду здесь сообщить, следует в заключение уделить некоторое внимание вопросу о возможной роли дезаминазы в функциональном метаболизме мышцы. Весьма вероятно, что найдутся скептики,



Рис. 6. *M* — миозин исходный;  
*M<sub>i</sub>* — миозин иррадиированный; *A* — актин

которые будут говорить, что нет достаточных оснований приписывать процессам образования аммиака, а следовательно и ферменту — дезаминазе, эти процессы катализирующему, — сколько-нибудь существенную роль в работе мышцы. Однако следует признать, что такая точка зрения является по меньшей мере спорной. Достаточно вспомнить, какое полное невнимание было уделено аденозинтрифосфатазы до тех пор, пока нами не была обнаружена ее связь с миозином, после чего АТР-аза внезапно стала предметом всеобщего интереса. Не имеет ли места нечто сходное и в отноше-

нии процессов образования аммиака в мышце? Было время, когда процессы аммонийногенеза в работах Эмбдена и его сотрудников рассматривались как едва ли не важнейшие в обмене функционирующей мышцы. Эта роль аммиака была оттеснена на задний план, отодвинута в тень выступившим в роли гегемона фосфатом. Напрашивается вопрос — не пора ли коренным образом пересмотреть эту точку зрения?

Тесная, в весьма постоянных количественных отношениях обнаруживаемая связь дезаминазы с сократительным веществом мышечного волокна, высокая активность фермента, значительное содержание его — того же порядка, что и аденозинтрифосфатазы, — все это не оставляет сомнения в том, что дезаминазе и катализируемому ею процессу отщепления аммиака принадлежит существенная роль в функции мышцы. Совершенно мало правдоподобно было бы ограничивать значение дезаминазы в мышце ролью «предохранительного клапана», вступающего в действие лишь в условиях крайних состояний, для удаления избыточно образующихся продуктов мышечного метаболизма. Если для аденозинтрифосфатазы на первый план выступает энергетическая роль катализируемой ею реакции, то в отношении дезаминазного действия положение пока значительно менее ясно. В первую очередь можно думать о локальных смещениях pH, либо, что, быть может, особенно важно, о высокой биологической активности иона аммония. В этой связи я хотел бы напомнить об опытах моего сотрудника Сейца, установившего совершенно исключительно высокую активность ионов аммония как фактора, обеспечивающего действие одного из важных ферментов углеводного обмена, именно энзима, переносящего фосфатный остаток с фосфопировиноградной кислоты на адениловую систему.

Подтверждением того, что процессам дезаминирования в мышце принадлежит важная роль, что они являются постоянным звеном в метаболизме этой ткани, являются наблюдения Калькара и Риттенберга, установивших чрезвычайно большую скорость обновления азота аминогруппы адениловой кислоты в мышцах в условиях их совершенно нормальной,

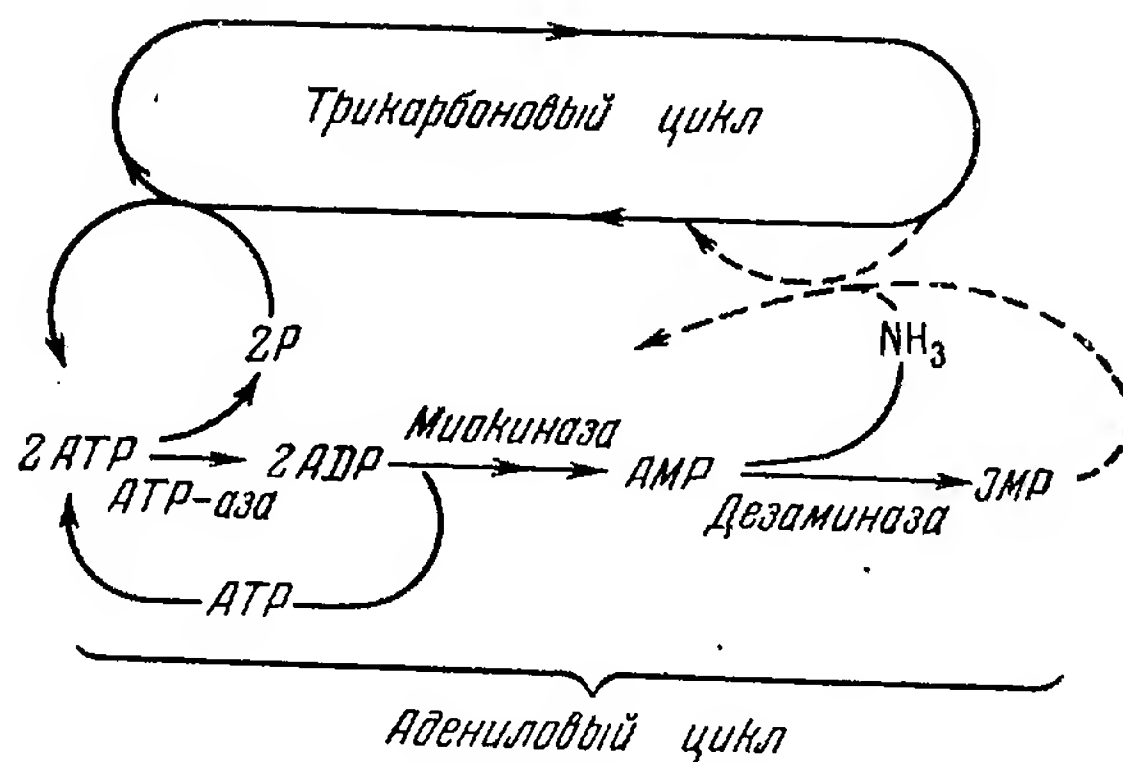


Рис. 7

обычной деятельности. Если включить процесс аммонирования в число фундаментальных процессов функционального метаболизма мышцы, то в качестве первоочередной задачи встанет изучение тех, пока совершенно невыясненных, — путей, какими осуществляется обратная фаза, процесс реаминирования инозинного остатка. Невольно напрашивается мысль, что и в этом процессе, как и в рефосфорилировании адениловой системы, принимает участие трикарбоксильный цикл, являющийся источником образования эффективных акцепторов аммиака. В таком случае весь адениловый цикл в целом, — и в своем начальном звене, и в звене конечном, завершающем, — оказался бы связанным с

тем циклом трикарбоновых кислот, которому посвящен настоящий симпозиум. Взаимоотношения указанных циклов можно было бы представить в виде схемы рис. 7.

Мне кажется, что есть еще одна черта в сообщенном мною материале, в известной мере сближающая изложенные здесь наблюдения с тем направлением, которое за последнее время приобрело едва ли не главенствующее положение в исследованиях, посвященных изучению трикарбоксильного цикла. От изучения отдельных звеньев этого цикла, столь важного для метаболизма клетки, исследователи перенесли центр внимания на изучение тех субцеллюлярных, но морфологически уже оформленных образований, в которых оказываются сосредоточенными все отдельные, многочисленные и разнообразные компоненты этого цикла. В результате такой пространственной сосредоточенности, очевидно, и становится возможной та слаженность, гармоническое протекание многочисленных реакций, которая характеризует функционирование всего цикла в целом. Объектом исследователя-«трикарбоксилста» стали в первую очередь субцеллюлярные, но еще морфологически оформленные элементы. Наши исследования в отношении характера их объекта спускаются еще на одну ступень ниже — можно сказать, что это «субморфический» уровень. Мы видим, что и в морфологически бесструктурном материале, каким являются препараты миозина, мы имеем дело с определенным энзиматическим комплексом, который можно искусственно расчленить на составляющие его части, но который мы имеем все основания считать не случайной смесью двух ферментов, а определенным физиологическим единством. Следует упомянуть, что и третий энзиматический член аденилового цикла — миокиназа — всегда обнаруживается в первых, еще не пере-



осажденных, препаратах миозина (кстати, недоучет этого факта явился причиной неправильных заключений о существовании дезаминаз АТР или АДР). Это говорит о существовании некоторой, хотя и значительно более слабой, связи с миозиновым комплексом, который в таком случае содержал бы всю совокупность энзимов аденилового цикла. Такого рода физиологические совокупности, разных степеней сложности, не могут не привлечь самого пристального внимания биохимика, изучающего проблемы функциональной биохимии, т. е. биохимических основ физиологических функций. А именно в этом состоит первоочередная задача биохимии наших дней.

**Page Denied**

Next 18 Page(s) In Document Denied



Х. С. КОШТОЯНЦ

*Кафедра физиологии животных Московского университета  
и Лаборатория общей и сравнительной физиологии  
Академии Наук СССР*

О РОЛИ РЕАКТИВНЫХ ГРУПП  
БЕЛКОВЫХ ТЕЛ  
В ПРОЦЕССАХ НЕРВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ

---

CH. S. KOCHTOYANTZ

*Chaire de physiologie animale de l'université de Moscou  
et Laboratoire de physiologie générale et comparée de l'Académie  
des Sciences de l'URSS*

LE RÔLE DES GROUPES RÉACTIFS  
DES CORPS PROTÉIQUES DANS LES  
PROCESSUS DE RÉGULATION NERVEUSE

---

#### О РОЛИ РЕАКТИВНЫХ ГРУПП БЕЛКОВЫХ ТЕЛ В ПРОЦЕССАХ ПЕРВОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Современные данные биологической химии позволяют по-новому ставить ряд актуальных вопросов физиологии и в том числе проблему о сущности раздражимости живого вещества и первой регуляции. Исходя из положения о том, что раздражимость является свойством белковых тел и в основе всех форм проявления жизнедеятельности организма лежат процессы обмена веществ, мы предприняли экспериментальные исследования для вскрытия глубоких взаимоотношений между нервной системой, структурой белковых тел и обменом веществ. Решение этого вопроса, помимо его общетеоретического значения, тесно связано с разработкой проблемы о сущности того трофического влияния нервной системы, которому придавали столь большое значение русские физиологи И. М. Сеченов и И. П. Павлов.

Основное внимание при экспериментальной разработке этой проблемы было привлечено к так называемым реактивным, или функциональным, группам белковых тел и в первую очередь к сульфгидрильным группам. Эти группы, как хорошо известно, играют большую роль в структуре белков, в том числе и в структуре белков, входящих в состав многих ферментов, в значительной степени определяя их активность. Общеизвестно, что блокирование сульфгидрильных групп приводит

к инаktivации многих ферментов, а их восстановление — к возвращению утраченной активности.

Физиологические опыты показали, что нормальный процесс передачи возбуждения с блуждающего нерва на сердце, с двигательных нервов на скелетную мускулатуру, а также с преганглионарного волокна на шейный симпатический узел блокируется при блокировании сульфгидрильных групп соответствующими препаратами, а внесение препаратов, восстанавливающих сульфгидрильные группы, например цистеина, восстанавливает передачу возбуждения. Было показано также, что эффект действия ацетилхолина, как «передатчика нервного возбуждения», также блокируется при блокировании сульфгидрильных групп и восстанавливается при восстановлении названных групп.

К этому следует добавить, что нормальная сократительная деятельность сердца, как правило, приостанавливается при блокировании сульфгидрильных групп и восстанавливается при действии цистеина. Опытами нашего сотрудника Т. М. Турпаева было показано, что подобная остановка деятельности сердца лягушки может быть вызвана при действии хлористого кадмия, азотнокислого серебра, а восстановление — при действии цистеина. Модельные опыты с различными аминокислотами, а также опыты с изотопом серебра ясно указывают на то, что речь идет об избирательном блокировании названными веществами именно сульфгидрильных групп белков.

Вопрос о том, в каком звене процессов передачи нервного возбуждения происходит нарушение биохимических процессов и структуры белка, требует для каждого случая специального рассмотрения. В случае сердечной мускулатуры, повидимому, имеет место блокирование сульфгидрильных групп собственно сокра-

двигательного белка; как показывают опыты наших сотрудников Г. Д. Смирнова, А. Л. Бызова и Ю. И. Рампапа, в случае блокирования передачи возбуждения с преганглионарного волокна, в верхнем шейном симпатическом узле блокирование происходит в синапсах; причем в этом случае нами показано нарушение основного процесса выделения ацетилхолина при раздражении преганглионарного волокна, что, в свою очередь, повидимому, свидетельствует о том, что нарушается процесс диссоциации ацетилхолинпротеида. В случае нарушения передачи возбуждения с двигательного нерва на скелетную мускулатуру, блокирование сульфгидрильных групп может происходить как в самом сократительном субстрате, так и в промежуточном мионевральном образовании.

Наши опыты показывают также, что нормальная чувствительность различных рецепторов находится в зависимости от состояния реактивных групп белковых тел. Так, например, опыты, проведенные совместно с С. А. Мирзояном, показали, что реакция падения кровяного давления в ответ на введение ацетилхолина в сосуды уха кролика, изолированного таким образом, что сохраняется лишь нервная связь уха со всем организмом, как правило, исчезает при блокировании сульфгидрильных групп чувствующих нервных окончаний сосудов уха и вновь восстанавливается после действия цистеина на эти нервные окончания.

В опытах, проведенных совместно с Ц. В. Сербенюк и Г. Н. Юрьевой, удалось установить также зависимость рефлексорных реакций на поджелудочную железу со стороны рецепторов кишечника от состояния тех же сульфгидрильных групп белков. Оказалось, что нормальная рефлексорная реакция выделения поджелудочного сока в ответ на введение соляной кислоты в кишку

исчезает при блокировании сульфгидрильных групп чувствующих окончаний кишечника и, как правило, восстанавливается после введения в кишечник цистеина. Особенно важно, что при этом речь идет не только о количественных изменениях секреторного процесса; при блокировании реактивных групп белка чувствительных окончаний кишечника соляная кислота вызывает выделение очень незначительного количества сока, с резким относительным понижением активности ферментов — липазы, трипсина и амилазы; после восстановления сульфгидрильных групп цистеином та же соляная кислота вызывает рефлекторное отделение поджелудочного сока с восстановленной до нормы активностью названных трех ферментов.

В целях восстановления нервно-регуляторных влияний, прерванных путем блокирования сульфгидрильных групп белковых тел, мы использовали не только внесение извне таких веществ, как цистеин, но и метод высвобождения резервных сульфгидрильных групп белков. Для этих целей нами были использованы мочевины и гуанидин, которые, как известно, наряду с другими структурными изменениями белка, вызывают высвобождение сульфгидрильных групп. Так, например, в наших опытах с нервно-мышечным препаратом, когда в результате длительного ритмического раздражения двигательного нерва наступало явление утомления мышцы, это утомление снималось при действии мочевины или гуанидина. Об участии в этом явлении сульфгидрильных групп свидетельствует и тот факт, что частичное снятие утомления не происходит при отдыхе мышцы, если предварительно заблокировать сульфгидрильные группы хлористым кадмием; однако восстановление передачи нервного возбуждения мышцы при этом происходит при введении цистеина.

Как показали наши гистохимические наблюдения, определенные изменения в состоянии сульфгидрильных групп белковых тел мышцы происходят при депервации и регенерации нервов. Опыты нашего сотрудника Н. Н. Демина показали также, что и под действием на белки ацетилхолина происходит освобождение сульфгидрильных групп.

Ранее хроматографическим методом нами было установлено, что при условии депервации мышцы резко меняется молекулярная структура гликогена, которая возвращается к норме при регенерации нервов.

Приводимые данные, вместе с ранее опубликованными и отчасти доложенными на последних двух международных физиологических конгрессах (Оксфорд, 1947 г.; Копенгаген, 1950 г.) материалами о возможности активного регулирования нервного влияния путем воздействия на ведущие звенья углеводного обмена и окислительно-восстановительные процессы, ясно указывают на связи нервного возбуждения с закономерностями, лежащими в основе жизни, т. е. со структурой белковых тел и процессами обмена веществ. На этих путях содружественная работа биохимиков и физиологов может привести к важным выводам для физиологии, биохимии и медицины.



**Page Denied**

Next 4 Page(s) In Document Denied



В. Н. ОРЕХОВИЧ

Член-корреспондент Академии Медицинских Наук СССР

*Институт биологической и медицинской химии АМН СССР,  
Москва*

ПРОКОЛЛАГЕНЫ,  
ИХ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ,  
СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

---

B. N. ORÉKHOVITCH

Membre correspondant de l'Académie des Sciences médicales de l'URSS

*Institut de la Chimie Biologique et Médicale  
de l'Académie des Sciences médicales de l'URSS, Moscou*

LES PROCOLLAGÈNES,  
LEUR STRUCTURE CHIMIQUE  
ET LEUR RÔLE BIOLOGIQUE

---

## ПРОКОЛЛАГЕНЫ, ИХ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

### I. Введение

В 1900 г. Зашариаде после обработки сухожилий хвоста крысы подкисленной водой обнаружил в этой воде в растворенном состоянии коллагеноподобный белок. В 1927—1931 гг. Нажот исследовал явление перехода белков сухожилия в раствор. Им были найдены различные способы выделения этого белка из раствора, причем белковые осадки он получал в виде волокон или геля. Нажот утверждал, что этот белок, или коллаген А, содержится только в сухожилиях хвоста крысы. Несколько позже Лепла удалось доказать, что упомянутый выше растворимый в подкисленной воде белок содержится не только в сухожилиях, но и в коже различных животных. Вслед за Нажотом и Лепла коллаген А начали изучать и другие исследователи. Некоторые из них пришли, в конце концов, к заключению, что так называемый коллаген А идентичен коллагену.

Мы заинтересовались вопросом о растворимых белках кожи в связи с обнаруженным нами явлением изменения (при некоторых заболеваниях) устойчивости белков кожи животных по отношению к протеолитическим

ферментам. Исследуя процесс расщепления тканевыми протеиназами белков кожи, экстрагируемых цитратным буферным раствором (рН 4,0), мы установили, что расщепляемость растворимых белков кожи здоровых животных значительно выше, чем белков кожи животных в первые дни после пересадки им злокачественных опухолей. В целях расшифровки механизма этого явления мы предприняли опыты по выделению чистых белков из цитратных кислых экстрактов, полученных из кожи ряда животных, и изучили химический состав и свойства этих белков. В результате исследований, предпринятых мною и моими сотрудниками К. Д. Орехович, Н. Е. Плотниковой, К. И. Страцицким, А. А. Тустановским, К. Ф. Фирфаровой, М. П. Черниковым и В. О. Шникитером, была обнаружена особая группа коллагеноподобных белков, встречающихся в ряде органов и тканей позвоночных. Эти белки были названы нами «проколлагенами», так как, в соответствии с нашими экспериментальными данными, мы допускаем возможность перехода *in vivo* проколлагенов в коллагены.

Из этих данных следует также, что так называемый растворимый коллаген, или коллаген А, относится к группе проколлагенов и отнюдь не идентичен коллагенам, как это ошибочно думают некоторые исследователи.

## II. Методы выделения проколлагенов

В нашей лаборатории были разработаны различные приемы получения проколлагенов в кристаллической форме. Наиболее простой из них заключается в следующем. Проколлаген извлекается из кожи или других органов и тканей животных цитратным буферным раствором (0,1 М; рН 3,0—4,5). Полученный экстракт

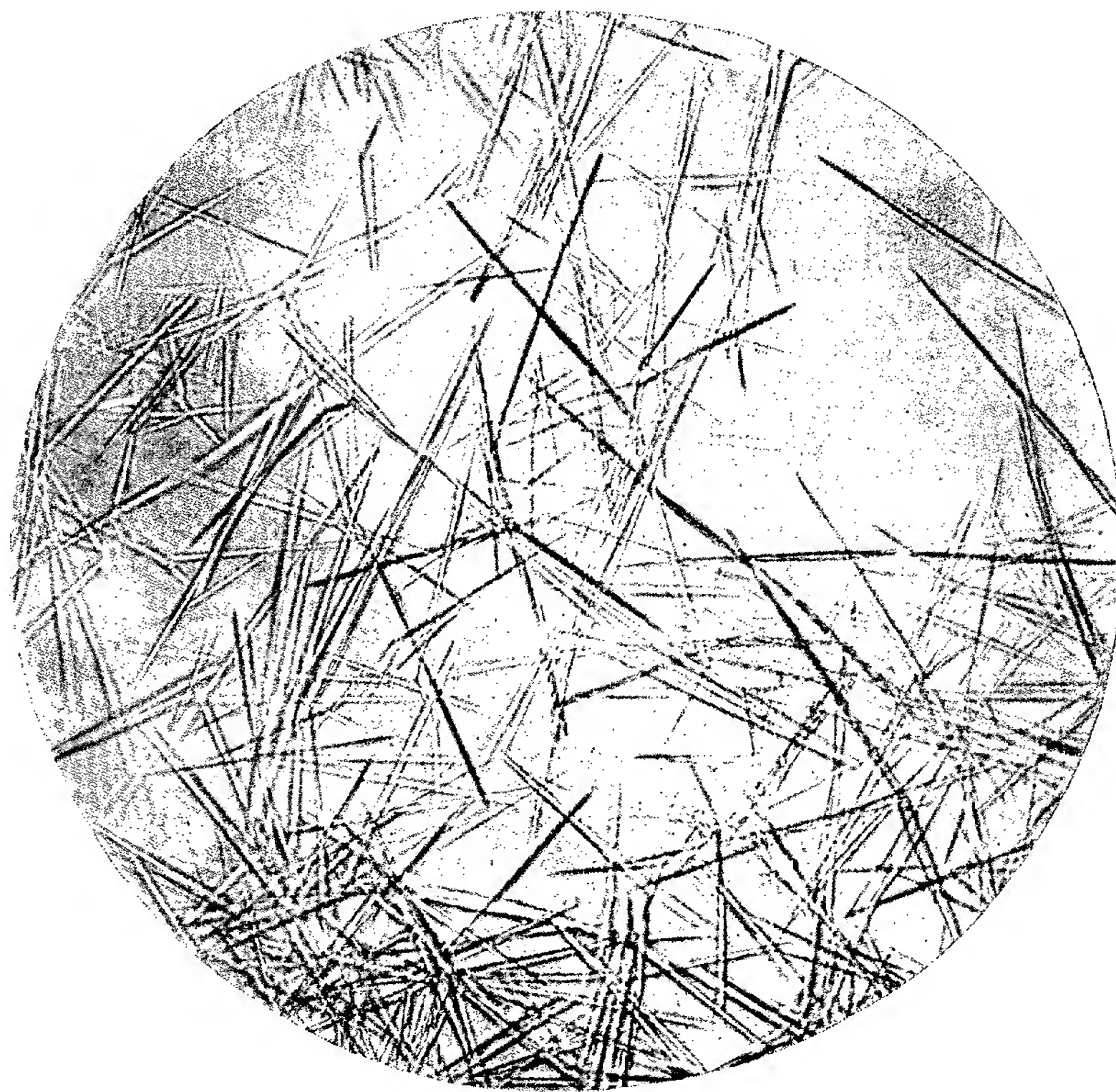


Рис. 1. Кристаллы проколлагена

диализуется в целлофановом или коллодиевом мешочке против водопроводной воды. Через 24—48 часов после начала диализа проколлаген выпадает в осадок в форме кристаллов (рис. 1) при условии, что рН воды будет не ниже 6,9. В противном случае проколлаген выпадает в виде геля или волокон. В тех случаях, когда не удается получить кристаллы проколлагена диализом против водопроводной воды, диализ растворов белка следует вести против сантиметлярного раствора двузамещенного фосфата натрия.

Проколлаген в кристаллической форме можно получить и методом высаливания или подщелачивания растворов. Если к цитратному экстракту из кожи добавить поваренную соль до конечной концентрации 1,35%, то значительная часть проколлагена, находящегося в растворе, выпадает в осадок в кристаллической форме. При подщелачивании боратым буферным раствором (рН 8,9) раствора проколлагена до рН 6,0—6,7 — белок выпадает в осадок в форме игольчатых кристаллов. Аморфные осадки нативного проколлагена можно получить добавлением к раствору белка поваренной соли до конечной концентрации от 2 до 4%, или охлажденного ацетона, или этанола до конечной концентрации 20%. Возможны и другие способы получения нативного проколлагена в аморфном состоянии. При этом имеются в виду методы подщелачивания, диализа и т. д.

Нами разработан метод получения сухих кристаллов проколлагена. Заключается он в следующем. Кристаллы проколлагена, полученные путем диализа раствора белка против водопроводной воды, суспендируются в дистиллированной воде, а затем взвесь кристаллов тщательно распыляется в сильном токе теплого воздуха (25—30°). Белковые кристаллы при этих условиях не



слипаются и быстро высыхают, сохраняя полностью кристаллическую форму, характерную для нативного кристаллического проколлагена.

### III. Распространение проколлагенов

Проколлагены были выделены нами из различных органов и тканей человека и представителей различных классов позвоночных. Количество проколлагена различно не только у разных видов животных, но и в разных тканях одного и того же вида животных.

Кристаллический проколлаген был выделен из кожи, тканей желудка и мочевого пузыря человека. Обнаружить проколлаген в тканях кровеносных сосудов и кишечника не удалось. Был выделен проколлаген в кристаллической форме из кожи крупного рогатого скота, кролика, собаки, кошки, судака, курицы, черепахи и лягушки и из тканей желудка собаки, зоба курицы, плавательного пузыря судака. В коже ужа этот белок обнаружен в очень небольших количествах и его удалось получить только в аморфном состоянии. В небольших количествах этот белок содержится также в сухожилиях крупного рогатого скота. Выделить проколлаген из тканей беспозвоночных животных (дождевых червей, прудовых улиток) не удалось: повидимому, в тканях беспозвоночных проколлаген отсутствует.

Необходимо отметить, что условия экстрагирования проколлагена из тканей разных видов животных различны. Так например, для экстракции проколлагена из кожи курицы наиболее подходящи буферные растворы, имеющие рН 3,0—3,5, а для экстракции белка из кожи черепахи — растворы, имеющие рН 2,0—3,0. Несколько различны и условия кристаллизации для проколлагенов различного происхождения.

#### IV. Химический состав проколлагенов

Был изучен элементарный состав проколлагенов (табл. 1), выделенных из кожи человека и различных позвоночных животных, а именно: крысы, кролика, теленка, курицы и судака. Проколлагены кожи мле-

Таблица 1

*Элементарный состав проколлагенов кожи (%)*

	Водород	Углерод	Азот
Человек . . . . .	6,60	47,93	17,04
Теленок . . . . .	7,0	49,0	17,0
Кролик . . . . .	6,69	47,91	17,37
Крыса . . . . .	7,3	51,0	16,9
Курица . . . . .	6,57	48,76	17,5
Рыба (судак) . . . . .	6,57	49,28	18,0

копитающих и человека по элементарному составу практически одинаковы. Некоторые различия в элементарном составе обнаружены между проколлагенами кожи млекопитающих и рыб. Так например, азота в проколлагене теленка содержится 17%, а в проколлагене кожи рыбы 18%.

Аминокислотный состав проколлагенов изучался методом распределительной хроматографии на бумаге и энзиматическими и химическими методами. При хроматографировании гидролизатов на бумаге не удалось установить каких-либо качественных различий в аминокислотном составе проколлагенов различного происхождения. Чтобы убедиться в этом, достаточно сравнить между собой хроматограммы проколлагенов кожи



человека и судака (рис. 2 и 3). На этих хроматограммах проявились следующие аминокислоты: 1) аспарагиновая, 2) глутаминовая, 3) серин, 4) гликоколл, 5) лизин, 6) аргинин, 7) аланин, 8) гистидин, 9) оксипролин,

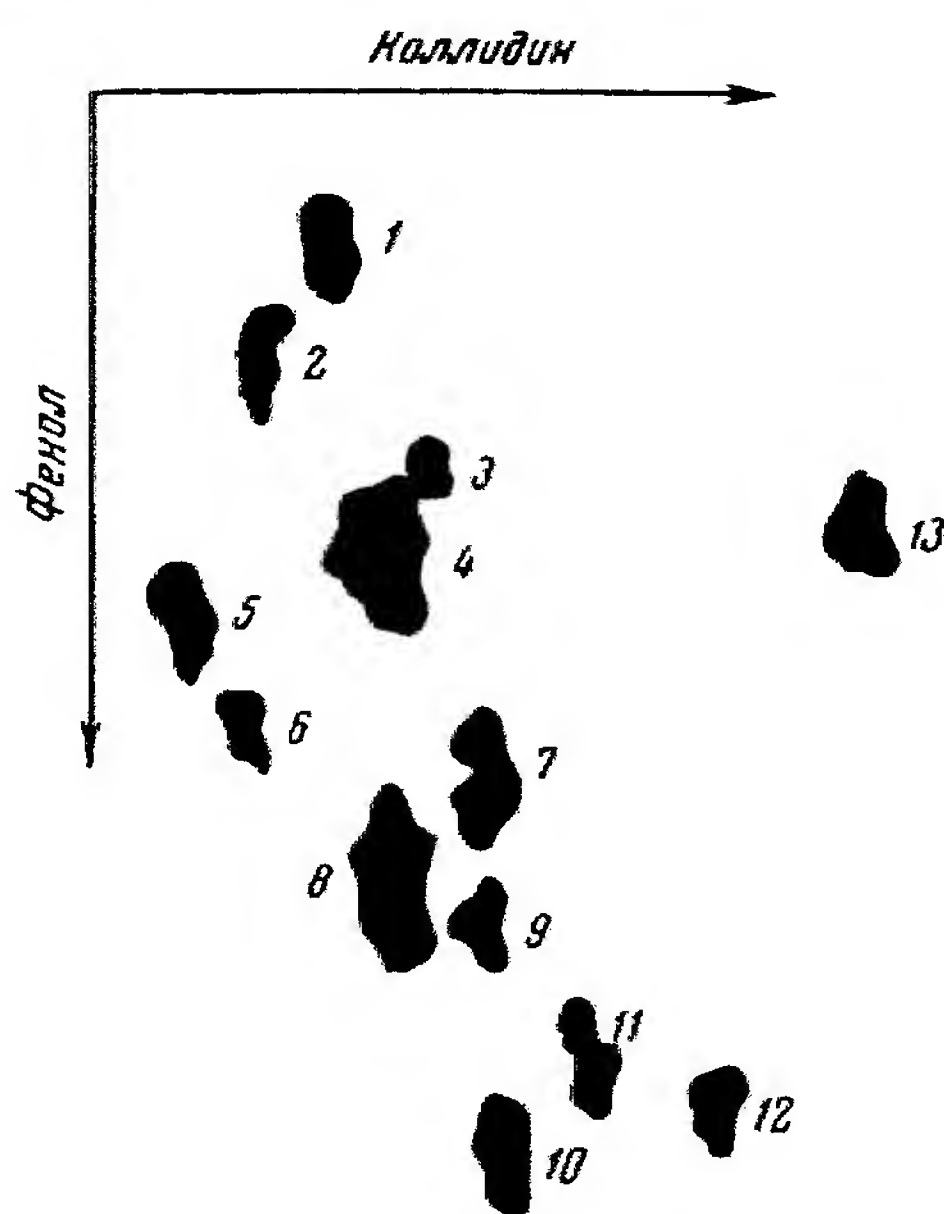


Рис. 2. Хроматограмма проколлагена  
(кожа человека)

10) пролин, 11) валин, 12) лейцин. Пятно 13 идентифицировать не удалось.

Данные о количественном аминокислотном составе приводятся нами в табл. 2. Получены они были следующими методами. Триптофан определялся по методу Хорн и Йонсс и по методу, разработанному В. Н. Ореховичем и А. А. Тустановским. Содержание тирозина определялось по методу Тома; фенилаланина — по методу Канслер-Адлера; гликоколл — по методу Алек-

сандера; аланина — по методу Браунштейна и Бычкова; метионина — по методу Мак-Карти и Сулливана; цистина и цистеина — по методу Накамура и Бинкли.

Аргинин, гистидин, лизин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты определялись ферментатическим методом по декарбоксилированию аминокислот препаратами

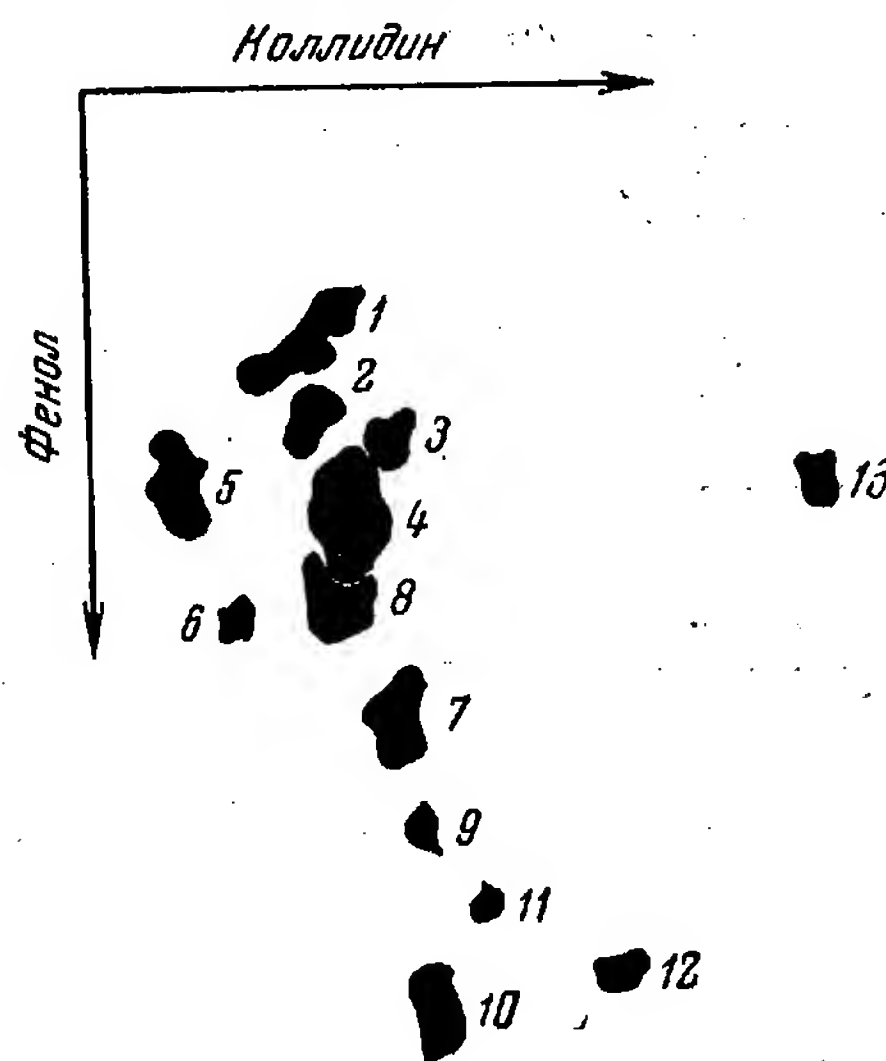


Рис. 3. Хроматограмма проколлагена (кожа судака)

бактериальных аминокислотных декарбоксилаз; цитруллин — по методу Ореховича и Тустановского.

Как это следует из данных, приведенных в табл. 2, в проколлагене полностью отсутствуют такие аминокислоты, как тирозин, триптофан, цистин и цистеин. Проколлаген отличается от коллагена по содержанию фенилаланина, гистидина, пролина и оксипролина. Судя по аминокислотному составу, молекулы проколлагена построены по тому же типу, что и молекулы колла-

Таблица 2

## Аминокислотный состав проколлагена и коллагена

	Прокollaгены из кожи		Колла- гены <sup>1</sup>	Желатина из кожи телятка <sup>2</sup>
	крысы	быка		
Триптофан . . . . .	0,0	0,0	0,0	0,0
Тирозин . . . . .	0,0	0,0	1,4	0,44
Фенилаланин . . . . .	2,4	2,3	4,2	2,2
Цистин и цистеин . . . . .	0,0	0,0	0,0	0,07
Метионин . . . . .	0,62	0,66	0,8	0,61
Аргинин . . . . .	8,8	9,2	8,8	8,0
Лизин . . . . .	4,6	4,6	4,5	4,1
Гистидин . . . . .	2,5	2,9	0,8	0,79
Цитруллин . . . . .	0,2	0,2	—	—
Аспарагиновая кисло- та . . . . .	5,3	5,2	6,3	6,7
Глутаминовая кислота . . . . .	11,4	11,0	11,3	11,5
Пролин и оксипролин . . . . .	20	20	29,1	34,1
Гликоколл . . . . .	26,0	28,0	26,2	25,5
Аланин . . . . .	8,5	9,5	9,5	8,7

<sup>1</sup> J. Bowes a. R. H. Kenten. — Bioch. J., 43, 3, 1948.<sup>2</sup> E. Cohn a. Edsall e. Proteins, amino-acids and peptides. 1943, p. 358.

гена, а именно: как в первом, так и во втором белке свыше 25% (по весу) молекулы составляет гликоколл, около одной четверти молекулы — пролин и оксипролин (по числу аминокислотных остатков эти три аминокислоты составляют 60% молекулы проколлагена). Как в первом, так и во втором белке содержится очень мало ароматических и серусодержащих аминокислот.

#### V. Свойства проколлагена, форма и размеры его молекулы

Прокollaгены нерастворимы в чистой воде и относительно слабо растворимы в подкисленной воде и кислых буферных растворах с невысокой concentra-

цией солей. Максимальная растворимость проколлагенов наблюдается при рН 3,0. В 100 мл кислого цитратного буфера (рН 3,0) можно растворить до 900 мг белка. Проколлагены в растворе довольно устойчивы при низкой температуре и мало устойчивы при температуре выше 25°. В случаях хранения раствора проколлагена в течение нескольких часов при температуре 25°, он денатурируется и выпадает в осадок. При кратковременном прогревании растворов проколлагена до 40—60° белок превращается в желатину.

Нами был изучен ультрафиолетовый спектр поглощения раствора проколлагена. В отличие от спектров большинства белков, для которых характерна одна широкая полоса поглощения в ультрафиолете, обусловленная наличием в белке триптофана, тирозина и фенилаланина, спектры растворов проколлагена имеют пять полос поглощения, свойственных фенилаланину. Эти наблюдения подтверждают результаты нашего химического анализа проколлагенов, говорящие об отсутствии тирозина и триптофана в исследуемом белке.

Электрофоретический анализ чистого нативного проколлагена кожи крысы показал гомогенность этого белка (рис. 4). Для опыта брался 0,2—0,3%-ный раствор белка в цитратном буфере, рН буфера — 3,95, ионная сила — 0,13. Исследования проводились при температуре +2° (время опыта — 10 часов при 5,89 В/см).

Параллельно изучалась подвижность проколлагена, раствор которого прогревался предварительно при 40° в течение 5 минут, и подвижность желатины, полученной из проколлагена и коллагена. Найдено следующее: подвижность нативного проколлагена равна  $1,86 \times 10^{-5}$  см<sup>2</sup> вольт<sup>-1</sup> сек.<sup>-1</sup>; подвижность прогретого при 40° проколлагена равна  $1,78 \times 10^{-5}$  и проколлагеновой

желатинны  $1,99 \times 10^{-5}$ . Подвижность коллагеновой желатинны значительно меньше подвижности проколлагеновой желатинны и равна  $1,19 \times 10^{-5}$ . Последнее представляет еще одно доказательство в пользу того, что проколлаген кожи является белком, отличным от коллагена, содержащегося в этом же органе.

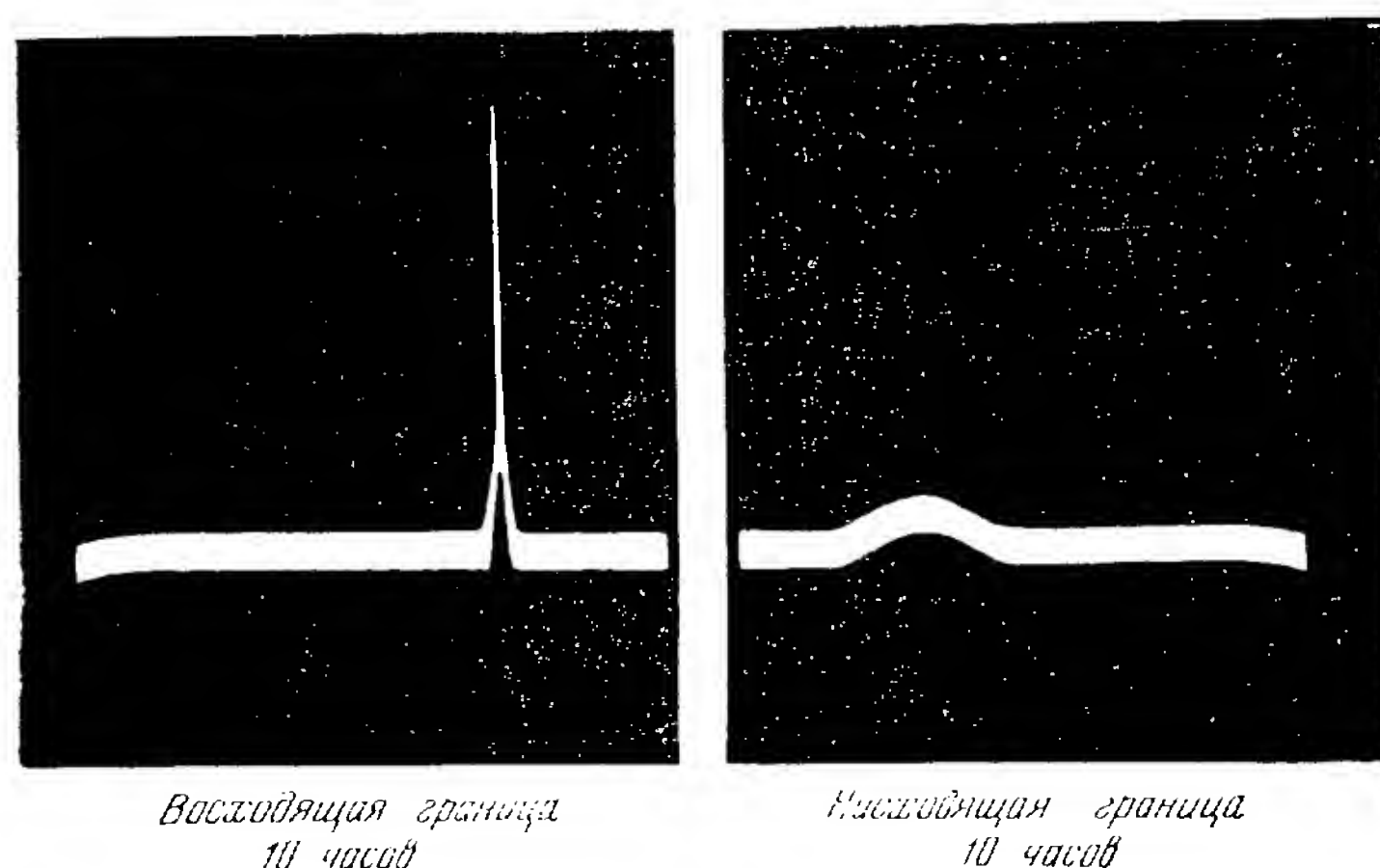


Рис. 4. Электрофоретическая кривая проколлагена

Молекулярный вес, форма и размеры молекул проколлагена, выделенного из кожи крыс, изучались С. Е. Бреслером, Н. А. Финогеновым и С. И. Френкелем (Ленинград). Константы седиментации белка изучались в ультрацентрифуге при 60 000 об/мин и ускорении 250 000 g (белок растворялся в 0,025 М цитратном буфере при pH 3,0).

Были измерены также константы диффузии ( $D$ ), удельный объем ( $V$ ) и вязкость.

Как это следует из данных, приведенных на рис. 5, нативный проколлаген является монодисперсным бел-

ком. Молекулярный вес проколлагена, вычисленный на основании полученных данных,  $70\,000 \pm 3500$ . Расчеты степени асимметрии молекулы показали, что молекула проколлагена представляет собой почти цилиндр, длина которого примерно, в 23 раза больше, чем

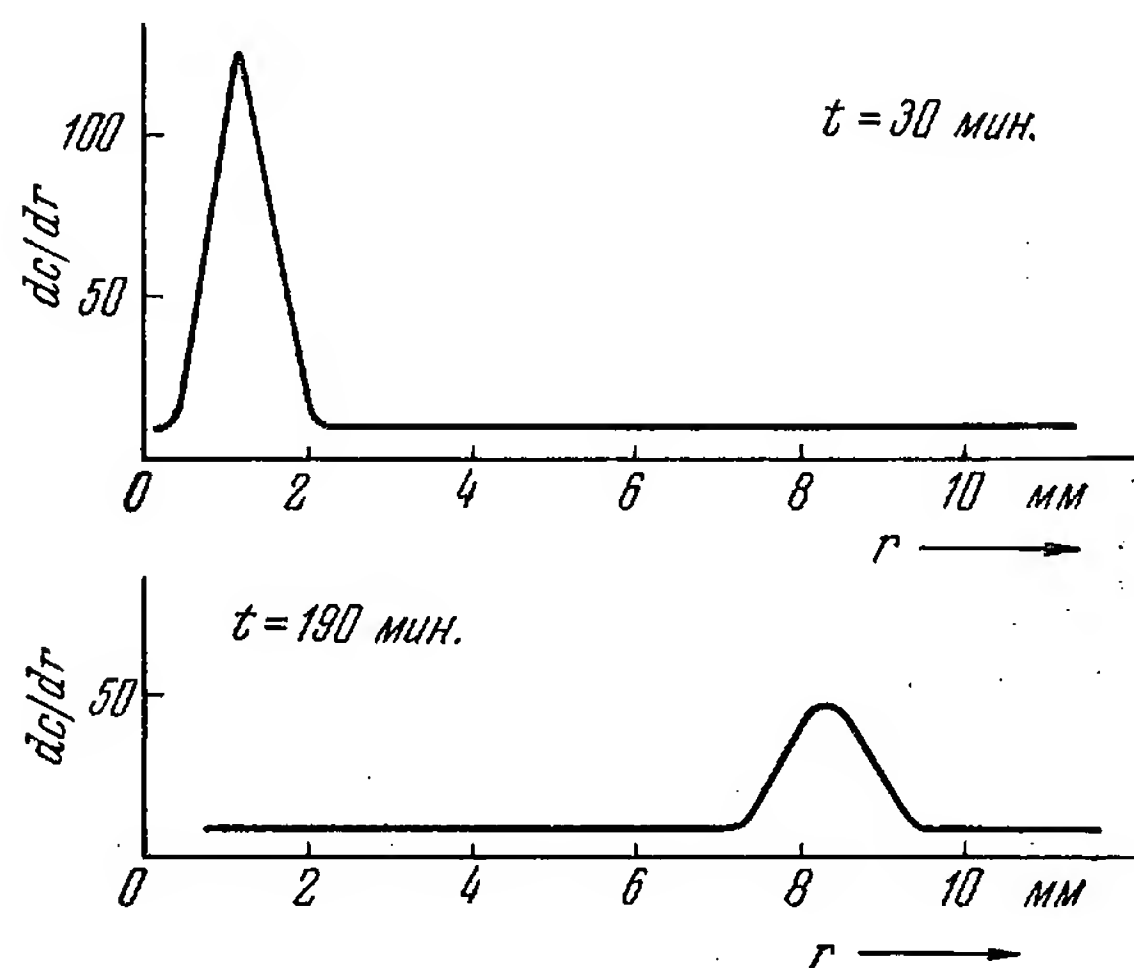


Рис. 5. Седиментация в ультрацентрифуге раствора проколлагена (по Бреслеру)

диаметр. Было найдено, что диаметр ( $d$ ) молекулы проколлагена равен  $16,7 \text{ \AA}$ , а длина ( $L$ ) —  $380 \text{ \AA}$ .

На основании приведенных нами ранее данных об аминокислотном составе белка можно считать, что средний вес аминокислотного остатка равен приблизительно 117, а так как молекулярный вес проколлагена равен 70 000, то число аминокислотных остатков в молекуле равно приблизительно 600. Исходя из этих данных, а также зная длину одной пептидной связи, можно было ожидать, что длина всей пептидной цепочки составит свыше 2000  $\text{\AA}$ . Фактически длина молекулы

проколлагена составляет 380 А, т. е. примерно в 6 раз меньше этой величины. Следовательно, можно предполагать в молекуле белка наличие параллельно лежащих и связанных друг с другом различными связями пептидных цепей.

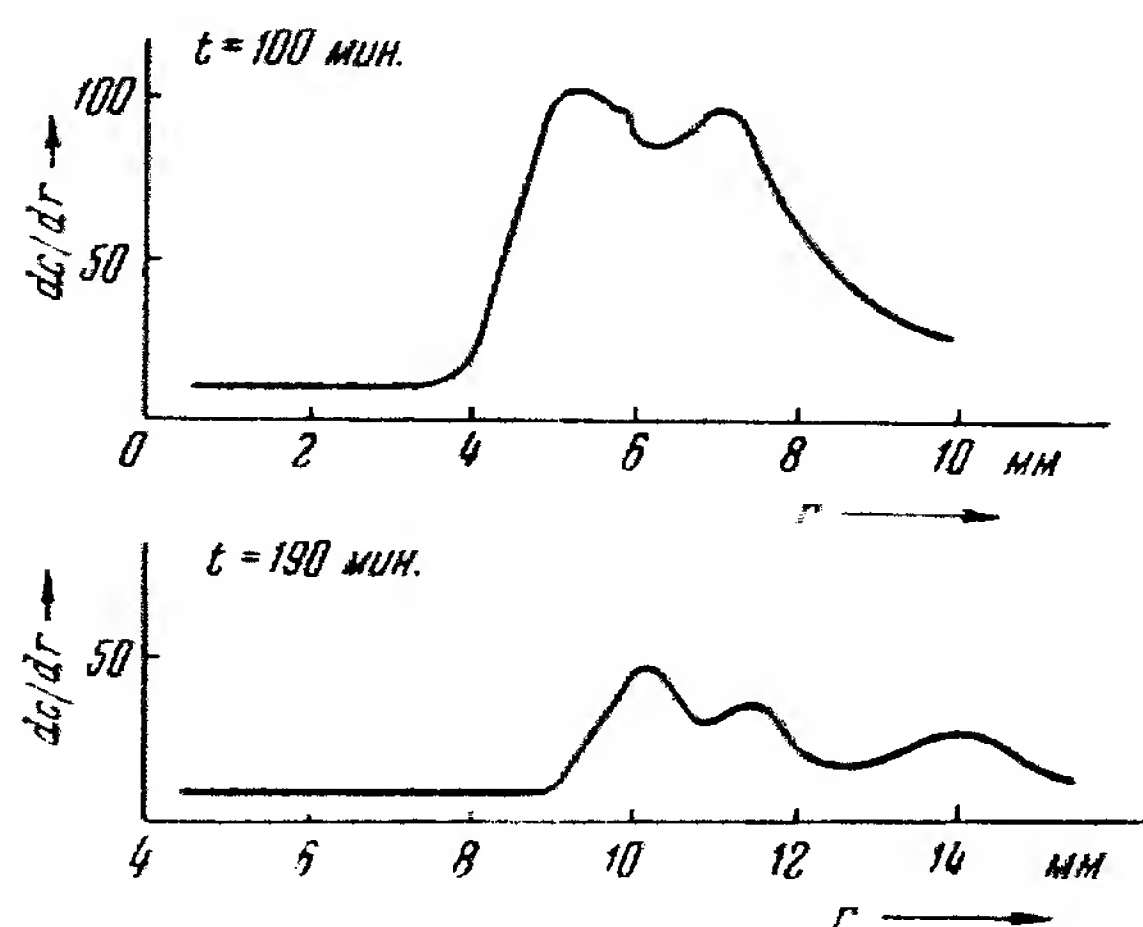


Рис. 6. Седиментации в ультрацентрифуге 0,21% раствора проколлагена в присутствии NaCl (по Бреслеру)

К сожалению, мы не имеем доказательств в пользу этого предположения, так как нам не удалось обнаружить свободных концевых  $\alpha$ -аминных групп. Весьма возможно, что эти концевые группы блокированы, и поэтому мы не можем их обнаружить. Нельзя исключить, однако, и предположение, что молекула проколлагена представляет собой одну полипептидную сложно упакованную цепь.

Присутствие солей существенно влияет на вязкость растворов проколлагена. В связи с этим небезинтересны данные, полученные Бреслером при изучении солевых



растворов проколлагена в ультрацентрифуге (раствор проколлагена в 0,32 M NaCl при pH 3,0). Как это видно из данных, представленных на рис. 6, наряду с пиком, соответствующим нативному проколлагену, появились новые пики, которые свидетельствуют о наличии в растворах частиц, оседающих быстрее, чем частицы неизменного проколлагена. Это говорит, по мнению Бреслера, об ассоциации и образовании удвоенных молекул. Такое удвоение идет, судя по некоторым данным, различным образом: или путем ассоциации двух молекул проколлагена по длине, причем длина образовавшегося ассоциата увеличивается вдвое, или же путем ассоциации двух молекул проколлагена параллельно друг другу.

Считается доказанным неодинаковое отношение коллагена к различным протеолитическим ферментам, в частности, согласно современным представлениям, нативный коллаген не расщепляется трипсином и расщепляется относительно хорошо пепсином. В отличие от коллагена проколлаген кожи расщепляется всеми известными в настоящее время тканевыми и пищеварительными протеиназами. По нашим данным, проколлаген хорошо расщепляется катепсином и папаином. Достаточно сказать, что в процессе гидролиза белка катепсином в оптимальных условиях за 24 часа освобождается в виде свободного аминокислородного азота около 40% всего азота, участвующего в образовании пептидных связей; около 30% аминокислородного азота освобождается под действием папаина. При гидролизе белка кристаллическим трипсином освобождается 15% аминокислородного азота, пепсином — 14% и химотрипсином — 9%.

Наши данные о расщепляемости проколлагена трипсином, химотрипсином и пепсином говорят о более широкой специфичности действия указанных ферментов в отношении проколлагена, чем это следует из представ-

лений Бергмана. По нашим данным, например, в составе проколлагена имеется около 10 остатков фенилаланина; следовательно, надо было бы ожидать разрыва под действием пепсина и химотрипсина не более 2% пептидных связей; фактически же разрывается пепсином восемь, а химотрипсином в четыре раза больше. То же самое можно сказать и относительно трипсина. В составе молекулы проколлагена имеется около 60 остатков лизина и аргинина. Следовательно, надо было ожидать, по Бергману, разрыва 10% пептидных связей, имеющих в молекуле. Разрывается же фактически 15%, т. е. на 50% больше.

#### VI. Биологическое значение проколлагена

На основании приведенных выше данных, мы можем утверждать, что проколлагены являются особой группой соединительнотканых белков. Вместе с тем эти данные говорят о том, что эти белки весьма близки к коллагенам и относятся к тому же типу, что и коллагены. Это позволило нам высказать предположение, что проколлагены являются биологическими предшественниками коллагена в организме. Для доказательства правильности этого заключения мы предприняли различного рода эксперименты, результаты которых мы имеем в виду сейчас изложить.

Прежде всего мы попытались решить этот вопрос, пользуясь методом изотопов. В первую очередь для метки был использован дейтерий. Мы исходили из предположения, что дейтерий будет более быстро внедряться в проколлаген и что, вводя в организм тяжелую воду, мы, в конце концов, добьемся более значительного по сравнению с коллагеном обогащения дейтерием этого белка. С прекращением введения дейтерия, как мы

предполагали, более обогащенный проколлаген будет превращаться в коллаген, и, в конечном счете, на каком-то этапе в коллагене будет содержаться больше дейтерия, чем в проколлагене. Опыты были поставлены на крысах. Тяжелая вода ( $D_2O$ ) вводилась животным в таких количествах, что в течение нескольких дней концентрация  $D_2O$  в жидкостях тела была равна 1%. Через несколько дней животные умерщвлялись, и из всех органов и тканей выделялись белки. Препараты белков длительно обрабатывались для удаления физически связанного тяжелого водорода, после чего доводились до постоянного веса и сжигались. В полученной воде после соответствующей очистки производилось определение атомного процента (ат. %) дейтерия по плотности флотационным методом.

Как это следует из данных, приведенных в табл. 3, наши ожидания не оправдались. Оказалось, что скорость обмена водорода на дейтерий в проколлагене и коллагене кожи практически одинакова.

Таблица 3

*Интенсивность обновления водорода в различных белках*

Белки	Избыток дейтерия, ат. %	Обновление, %
Коллаген кожи . . . . .	0,132	13,2
Проколлаген кожи . . . . .	0,123	12,3
Осееин . . . . .	0,115	11,5
Альбумины и глобулины кожи . . .	0,177	17,7

Так как по скорости внедрения дейтерия в белки тканей и органов трудно судить о скорости синтеза белков или обновления отдельных структурных частей

молекулы белка, мы предприняли новую серию опытов, используя для метки не дейтерий, а радиоактивный углерод ( $C^{14}$ ). Был синтезирован глицин, содержащий в карбоксильной группе  $C^{14}$ . Крысам вводилось некоторое количество меченого глицина из расчета общей активности 5000 импульсов в минуту на 1 г веса животного. Животные умерщвлялись через 5, 7, 18, 21, 98 и 240 часов после введения глицина. Кожа измельчалась и заливалась десятикратным количеством 0,1 М раствором цитратного буфера (pH 4,0). Экстракция проводилась на холоду при температуре  $+2^{\circ}$  в течение 24 часов. По истечении этого срока смесь центрифугировалась. Жидкость, содержащая проколлаген в растворенном состоянии, фильтровалась, а оставшаяся кашица вторично заливалась десятикратным количеством раствора цитратного буфера и т. д. Это повторялось 6—7 раз. Из полученных таким образом нескольких экстрактов отдельно выделялся проколлаген осаждением холодным ацетоном до конечной концентрации 20%. Осадки проколлагенов отмывались несколько раз ацетоном (20 и 50%), затем этанолом (50 и 95%) и сушились этанолом, смесью этанола с этиловым эфиром, и, наконец, этиловым эфиром.

Об интенсивности включения метки в белки мы судили по радиоактивности белков. Полученные данные приведены в табл. 4. Они выражены в количестве импульсов в минуту на 10 мг белка.

Как явствует из приведенных в таблице данных, активность белков, выделенных из различных экстрактов, различна, хотя во всех случаях она максимальна через 21 час после введения глицина. Белок, полученный при первой экстракции, обладает максимальной активностью — 121. Активность белка, полученного при второй экстракции, равна уже 100, при третьей —

Таблица 4

*Активность проколлагена, выделенного из различных экстракций, и коллагена в зависимости от времени, истекшего с момента введения метки*

№ экстракции	Ч а с ы					
	5	7	18	21	98	240
I . . . . .	35	90	90	121	92	42
II . . . . .	33	75	70	100	89	35
III . . . . .	23	65	77	91	68	41
IV . . . . .	12	66	80	80	65	35
V . . . . .	10	55	62	67	40	27
VI . . . . .	14	46	60	60	55	30
Коллаген . . . . .	13	13	20	25	29	27

91, при четвертой — 80, при пятой — 67 и шестой — 60. Таким образом, активность проколлагена, полученного при шестой экстракции, в два раза меньше активности проколлагена, полученного при первой экстракции.

При рассмотрении данных об активности белков, выделенных через пять часов после введения животному глицина, бросается в глаза следующее. Активность проколлагена, полученного при первой экстракции, почти в три раза больше активности коллагена, выделенного из кожи. Активность проколлагена всех остальных пяти экстрактов постепенно изменяется до минимальной — равной активности коллагена.

На основании данных, приведенных в табл. 4, можно предполагать, что в коже, наряду с проколлагенами и коллагенами, существует целый ряд промежуточных белковых форм, переходных от проколлагена к коллагену. Это же следует и из других наших наблюдений.



Проколлаген, полученный при первой, второй и третьей экстракциях, не содержит даже следов тирозина, при четвертой экстракции, наряду с чистым проколлагеном, в раствор переходят и промежуточные белковые фракции, но пока в малом количестве, и поэтому проколлаген этих экстрактов содержит лишь следы тирозина; затем, с каждой последующей экстракцией, количество тирозина в белках возрастает. Таким образом, белки, выделенные из экстрактов 4, 5, 6 и т. д., содержат разные количества тирозина, т. е. мы имеем дело с различными переходными формами от проколлагена, не содержащего тирозина, до коллагена, в котором эта аминокислота содержится в ощутимых количествах (до 1,5%).

Нам кажется, что эти данные довольно убедительно свидетельствуют о том, что в организме коллаген образуется из проколлагена. Подтверждением этого положения могут служить и наши данные об изменении содержания проколлагена в коже животных в зависимости от возраста, а также при некоторых патологических состояниях.

Достаточно хорошо известно, что у животных, страдающих цингой, очень плохо идет рубцевание ран. Гистологами было показано, что у скорбютных животных новые коллагеновые волокна не образуются, а по данным химических исследований, в тканях больных животных сильно тормозится процесс накопления коллагена. Известно также, что по мере старения организма скорость накопления коллагена в тканях постепенно уменьшается.

Если высказанное выше предположение о том, что коллаген образуется из проколлагена, правильно, то надо ожидать торможения процессов образования проколлагенов по мере старения организма, а также при

заболеваниях цингой и при других патологических состояниях, при которых процесс образования коллагеновых волокон тормозится.

Таблица 5

*Содержание проколлагена в коже нормальных морских свинок разных возрастов*

Возраст	Вес в моменту забоя, г	Прокол- лаген, %	Возраст	Вес в моменту забоя, г	Прокол- лаген, %
10 дней <sup>1</sup>	80—117	6,7	2—6 мес.	547	8,2
20 дней <sup>1</sup>	120—170	7,3	7—8 »	690	4,0
2—6 мес.	262	8,2	То же	670	2,9
То же	287	7,0	»	715	2,7
»	334	8,3	»	740	3,9
»	347	7,5	»	760	4,9
»	323	10,5	8 мес.	771	1,0
»	346	10,4	8 мес. и выше	800	1,6
»	367	6,8	То же	840	3,5
»	377	14,0	»	862	1,8
»	384	8,4	»	875	3,3
»	400	10,5	»	905	6,0
»	402	9,4	»	984	2,6
»	448	10,0	»	1005	3,1
»	454	8,3	»	1050	1,8
»	535	8,5			

<sup>1</sup> Кожа взята от 10 свинок.

Как видно из табл. 5, содержание проколлагена в коже нормальных морских свинок с возрастом резко падает.

Выяснилось, что у морских свинок в возрасте от 10 дней до 5—6 месяцев количество проколлагена колеблется в пределах от 7 до 10,5%. У более старых животных, в возрасте 7—8 месяцев, проколлагена в коже 3—5%, а у животных в возрасте 8 месяцев и выше количество проколлагена падает даже до 1%.



По данным Гершеневича, в коже людей старческого возраста проколлагена содержится значительно меньше, чем в коже людей более молодых, причем, по данным этого же автора, оказалось, что в злокачественных опухолях, развивавшихся у людей старческого возраста, проколлаген образуется в больших количествах, в то время как в коже этих же людей он почти не образуется.

Таблица 6

*Содержание проколлагена в коже скорбунных морских свинок*

Исходный вес, г	Вес после 15—18 дней содержания на нормальной диете, г	Вес в день вскрытия, г	Проколлаген, %
250	312	233	6,4
220	263	183	5,5
252	322	255	5,2
217	280	222	5,5
271	350	206	4,8
295	342	190	4,7
256	309	188	3,7
227	274	174	2,7

Интересные данные получены на скорбунных животных. Как видно из табл. 6, количество проколлагена в коже морских свинок, пораженных цынгой, в два раза меньше, чем в коже здоровых животных. У голодающих животных количество проколлагена в коже несколько ниже характерных для нормально питающихся животных средних величин, но не выходит за пределы индивидуальных отклонений, наблюдаемых в норме, и не падает ниже 6% сухого веса кожи, в то

время как у скорбунных животных оно падает до 3—4%.

Так как в коже скорбунных животных (у которых процессе образования коллагеновых волокон заторможен) количество проколлагена резко падает, а у голодающих животных (у которых процессе коллагенообразования не тормозится) количество проколлагена заметно не уменьшается, мы можем утверждать, что существует прямая зависимость между скоростью коллагенообразования и содержанием проколлагена в коже. В пользу этого утверждения говорит тот факт, что у молодых, растущих животных (у которых коллагеновые волокна образуются интенсивно) в коже содержится большое количество проколлагена, а у старых животных (у которых процессе образования коллагеновых волокон почти приостановлен) количество проколлагена в коже незначительно.

Таким образом, на основании всего нами изложенного, можно утверждать, что проколлагены являются тем белковым субстратом, за счет которого образуются коллагеновые волокна, и что проколлагены играют существенную роль в процессе заживления ран и регенерации.

Необходимо кратко остановиться еще на наших данных об изменении содержания коллагена и проколлагена в коже животных, страдающих авитаминозами А и Е.

У здоровых и страдающих авитаминозом А крыс было определено содержание коллагена и проколлагена в коже. Установлено, что количество коллагена в коже авитаминозных животных равно количеству коллагена в коже здоровых (73,6% в первом случае и 72,9% во втором), а содержание проколлагена в коже авитаминозных животных несколько выше (18,5%),

чем в коже здоровых (15,3%). Аналогичные данные были получены в опытах с авитаминозом Е, причем количество проколлагена у больных животных оказалось приблизительно на 25 % больше, чем у здоровых животных (количество коллагена у больных и у здоровых животных оказалось одинаковым).

Эти данные еще раз подчеркивают, что проколлагены и коллагены являются различными белками.

## VII. Выводы

На основании приведенных выше данных можно сделать следующие выводы.

1. В коже и других органах и тканях позвоночных животных содержится особая группа соединительно-тканых белков, названных нами проколлагенами. Изучение их химического состава и свойств позволило прийти к заключению, что проколлагены относятся к тому же классу белков, что и коллагены, но отличаются от последних по химическому составу и ряду физико-химических и химических свойств.

2. Проколлагены являются биологическим предшественником коллагенов в организме животных. Это утверждение обосновывается нашими опытами по изучению этих белков методом изотопов, а также нашими данными об изменении содержания проколлагенов в коже в зависимости от возраста и состояния организма.

3. Удалось обнаружить в коже различные белковые фракции, относящиеся к тому же классу белков, что и проколлагены, но по ряду своих свойств занимающих промежуточное положение между проколлагенами и коллагенами и являющихся, по видимому, переходными формами от проколлагена к коллагену.

Л и т е р а т у р а

- Б р е с л е р С. Е., Ф и н о г е н о в П. А., Ф р е н к е л ь С. Я.  
ДАН, 72, 555, 1950.  
О р е х о в и ч К. Д. ДАН, 71, 521, 1950.  
О р е х о в и ч В. П. Биохимия, 3, 456, 1938.  
О р е х о в и ч В. П. Биохимия, 3, 616, 1938.  
О р е х о в и ч В. П. Биохимия, 5, 332, 1940.  
О р е х о в и ч В. П. Украинский биохим. журн., 22, 455, 1950.  
О р е х о в и ч В. П., Т у с т а н о в с к и й А. А. Бюлл. эксп.  
биол. и мед., 23, 197, 1947.  
О р е х о в и ч В. П., Т у с т а н о в с к и й А. А., О р е х о -  
в и ч К. Д. ДАН, 57, 475, 1947.  
О р е х о в и ч В. П., Т у с т а н о в с к и й А. А., О р е х о -  
в и ч К. Д., П л о т н и к о в а Н. Е. Биохимия, 13, 55,  
1948.  
О р е х о в и ч В. П., Т у с т а н о в с к и й А. А., П л о т -  
н и к о в а Н. Е. ДАН, 60, 837, 1948.  
О р е х о в и ч В. П., К о н и к о в а А. С., О р е х о в и ч  
К. Д., Д о б б с е р т Н. Н. ДАН, 71, 105, 1950.  
П л о т н и к о в а Н. Е. ДАН, 58, 1715, 1947.  
П л о т н и к о в а Н. Е. Вопросы медхимии, 1, 82, 1949.  
П л о т н и к о в а Н. Е. ДАН, 66, 114, 1949.  
Т у с т а н о в с к и й А. А. Биохимия, 12, 285, 1947.  
Т у с т а н о в с к и й А. А. Вопросы медхимии, 1, 159, 1949.  
Ч е р н и к о в М. П. ДАН, 67, 345, 1949.  
Zachariadés. C. R. Soc. biol., 52, 182, 251, 1127, 1900.  
Lerplat. C. R. Soc. biol., 112, 1256, 1933.  
Nageotte. C. R. Soc. biol., 96, 172, 464, 828, 1268, 1927;  
97, 559, 1927; 98, 15, 1928; 104, 156, 1930.  
Nageotte. Arch. biol., 41, 1, 1931.

**Page Denied**

Next 23 Page(s) In Document Denied

Академик А. В. ПАЛЛАДИН

*Институт биохимии Академии наук  
Украинской ССР, Киев*

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ  
ГОЛОВНОГО МОЗГА

---

A. V. PALLADINE

de l'Académie des Sciences de l'URSS

*Institut de Biochimie de l'Académie des Sciences  
de la RSS d'Ukraine, Kiev*

RECHERCHES SUR LA BIOCHIMIE  
DU CERVEAU



### ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Основной задачей исследований в области биохимии центральной нервной системы (одной из наиболее важных областей биохимии, ибо нервная система, как показали великие русские физиологи Сеченов и Павлов, коррелирует все функции животного организма и обеспечивает связь организма с внешней средой) являются, с одной стороны, выяснение закономерностей обмена веществ, лежащих в основе процессов возбуждения и торможения, характеризующих нервную деятельность, и, с другой стороны, вскрытие, путем изучения обмена веществ, механизма, регулирующего влияние нервной системы на весь организм.

В настоящем докладе излагаются результаты подобных исследований по изучению обмена веществ головного мозга, выполненных в Институте биохимии Академии наук Украинской ССР мною вместе с сотрудниками института Б. Хайкиной, Э. Сквирской, Е. Рашба, Ц. Штутман, А. Поляковой и Е. Гончаровой.

Наши исследования показали, что в ткани головного мозга содержится очень активный фермент амилаза (Е. Рашба), который по своей химической природе является нейроальбумином (А. Палладин и Е. Рашба). Будучи адсорбированной на белках головного мозга, амилаза освобождается при автолизе, чем отличается

от амилазы крови, которая при автолизе теряет свою активность. Распад полисахаридов в ткани головного мозга происходит, в основном, под влиянием амилазы, а также мальтазы, содержащейся, согласно нашим исследованиям, в ткани головного мозга (Е. Рашба).

Синтез полисахаридов в головном мозгу происходит под влиянием двух ферментов — фосфорилазы, обуславливающей образование крахмалоподобного полисахарида (Б. Хайкина), и инвертазы, превращающей крахмалоподобный полисахарид в гликоген (Б. Хайкина и Е. Гончарова).

Нами были изучены и другие ферменты начальных этапов углеводного обмена, и мы нашли, что различные отделы головного мозга характеризуются различной активностью ферментов углеводного обмена, а именно, гексокиназы, фосфорилазы, фосфоглюкомутазы, альдолазы, фосфофразы и аденозинтрифосфатазы. Эта последняя является водорастворимым белком (А. Палладин и Ц. Штутман) и активируется магнием, но не активируется кальцием, чем отличается от аденозинтрифосфатазы мышечной ткани. Мы обнаружили, что в ткани головного мозга содержится специфическое вещество, тормозящее аденозинтрифосфатазу.

Изучая ферменты, вызывающие распад и синтез гликогена, мы исследовали также содержание гликогена в различных отделах головного мозга и могли обнаружить его наличие в коре больших полушарий и в мозжечке здоровых животных (А. Палладин и Б. Хайкина), в то время как ряд исследователей находил его только в головном мозгу животных при патологическом состоянии. Мы нашли, что гликоген мозга не является инертным, «иммобильным» веществом, а подвергается непрерывным превращениям. Быстро протекающий обмен гликогена, вероятно, обуславливает

то, что он в нормальных условиях не накапливается в значительных количествах в клетках головного мозга, почему его многим исследователям и не удавалось обнаружить в коре головного мозга и в мозжечке.

Несостоятельность мнения об «иммобильности» гликогена особенно наглядно видна из результатов наших исследований углеводного обмена головного мозга при различных его функциональных состояниях. Так, при возбуждении центральной нервной системы до судорожного состояния (путем раздражения электрическим током, или при помощи кардиазола), сильно повышается активность амилазы и уменьшается общее содержание гликогена. При паркозе, наоборот, наряду со снижением активности амилазы увеличивается содержание гликогена (Б. Хайкина и Е. Гончарова).

Работы над вопросом о свойствах, условиях действия и роли отдельных ферментов в ткани головного мозга в связи с его функцией привели нас к выяснению возможности их перестройки. Изучение изменчивости ферментов животного организма под влиянием условий его жизни является одной из важнейших задач биохимии животных. Возможность перестройки ферментов пищеварительного аппарата под влиянием требований внешней среды впервые была показана И. П. Павловым в его работах по пищеварению. Для ферментов мышц и печени это было доказано нашими исследованиями над тренировкой мышц и усиленной мышечной работой (А. Палладин). Мы установили также изменение активности различных ферментов мозга во время эмбрионального развития (А. Палладин).

Возможность перестройки ферментов головного мозга под влиянием условий внешней среды, изменяющих также внутреннюю среду, была доказана нами (Е. Рашба) следующим образом. У животных (крыс

и кроликов) путем длительного кормления их сахарозой вызывалась хроническая гипергликемия. Через 45—80 дней после начала кормления сахарозой определялась активность амилазы в головном мозгу. Оказалось, что активность амилазы была снижена.

Аналогичный результат был получен на животных с аллоксановым диабетом, у которых активность амилазы крови была повышена. И при аллоксановом диабете активность амилазы мозга оказывалась сниженной. Таким образом, амилаза головного мозга подвергается изменениям под влиянием алиментарной гипергликемии и диабета.

Различные фармакологические «возбуждающие» вещества по-разному влияют на обмен веществ в головном мозгу, в связи с чем находится и различный физиологический эффект при их воздействии.

Наше исследование показало, что при возбуждении центральной нервной системы, вызванном введением первитина, содержание нуклеиновых кислот почти не меняется (Э. Сквирская), содержание аденозинтрифосфорной кислоты повышается (Б. Хайкина); повышается также интенсивность анаэробного гликолиза (Н. Полякова).

При возбуждении, вызванном введением кардиазола, наблюдаются иные изменения в обмене веществ: содержание аденозинтрифосфорной кислоты почти не меняется, интенсивность гликолиза повышается в гораздо меньшей степени. Таким образом, первитин и кардиазол оказывают неодинаковое влияние на процессы обмена веществ в головном мозгу, что и обуславливает их различное физиологическое действие.

Изучение обмена веществ при длительном наркотическом сне показало прежде всего, что в этом случае обмен нуклеиновых кислот происходит достаточно

интенсивно, причем процессы синтеза преобладают над процессами распада, так как, несмотря на значительное повышение активности деполимеризующего фермента — дезоксирибонуклеазы, содержание нуклеиновых кислот, как рибонуклеиновой, так и дезоксирибонуклеиновой, почти не меняется (Э. Сквирская).

Изучение углеводного обмена при кратковременном наркотическом сне (4 часа) показало снижение содержания преформированной молочной кислоты и отсутствие заметных изменений в гликолитической активности (Н. Полякова) наряду с повышением содержания полисахаридов (Б. Хайкина и Е. Гончарова). Эти изменения, равно как понижение активности фермента гексокиназы (в то время как активность амилазы и синтетическая активность фосфорилазы остаются в пределах нормы), указывают на пониженное расходование углеводов при наркотическом сне и на то, что их обмен остается при наркотическом сне на достаточно высоком уровне. Что касается содержания в головном мозгу при кратковременном наркотическом сне аденозинтрифосфорной кислоты, то ее количество оказывается увеличенным (Б. Хайкина); это накопление аденозинтрифосфорной кислоты, вероятно, зависит от того, что во время сна падает ее расходование.

Эти наши данные, освещающие биохимическую сторону сна, как охранительного торможения, говорят, таким образом, что во время сна обмен веществ протекает активно и процессы синтеза преобладают над процессами распада, что и обуславливает восстановление работоспособности мозга. Это согласуется с учением И. П. Павлова об охранительном торможении.

Одним из состояний центральной нервной системы, важных и для клиники и с точки зрения углубления наших представлений о регуляции обмена веществ



в организме, является хроническое функциональное ослабление нервной системы. Предприняв первую попытку изучить изменения в процессах обмена веществ, наблюдающиеся в этом случае в организме, мы нашли (Е. Рашба), что у крыс с функционально ослабленной нервной системой наблюдается незначительное, но постоянное снижение интенсивности дыхания тканей мозга и печени наряду с некоторым нарушением кинетики потребления кислорода тканью мозга. Отнести эти результаты за счет недостатка субстратов для дыхания в ткани мозга и печени подопытных животных не представляется возможным, так как животные всегда были хорошо упитаны. Кроме того, контрольные опыты говорили о наличии избытка собственных субстратов в тканях как контрольных, так и животных с функционально ослабленной нервной системой.

В связи с важной ролью белков в центральной нервной системе, о чем еще в 1891 г. говорил русский физиолого-химик А. Данилевский, мы предприняли изучение «структурного» белка мозга и нашли (Е. Рашба и Ц. Штутман), что «структурный» белок мозга представляет собой смесь ядерных и цитоплазматических нуклеопротендов и что он не аналогичен миозину мышечной ткани. «Структурность» белка мозга обуславливается присутствием высокополимеров дезоксирибонуклеиновой кислоты, а его аденозинтрифосфатазная активность — адсорбированной аденозинтрифосфатазой цитоплазмы. Этот «структурный» белок в момент осаждения адсорбирует из раствора и другие водорастворимые ферментные белки. Таким образом, «структурный» белок мозга является артефактом.

Путем применения различных методов фракционирования удалось выделить из ткани головного мозга цитоплазматический нуклеопротенд (Е. Рашба и



Ц. Штутман), который является рибонуклеопротеидом с прочной связью между нуклеиновой кислотой и белком и с отношением азота к фосфору, равным 8. Кроме этого цитоплазматического нуклеопротеида, в мозговой ткани содержится нуклеопротеид ядер, нерастворимый в физиологическом растворе. Для его изучения необходимо было прежде всего выделить ядра мозга.

Соответствующим методом (А. Паллади, Е. Рашба и Ц. Штутман), основанным на разделении цитоплазмы и ядер в растворах определенного удельного веса, нами были выделены и изучены ядра серого и белого вещества полушарий головного мозга коров и ядра мозга собак. Анализ ядер показал, что ядерный нуклеопротеид содержит и рибонуклеиновую кислоту и дезоксирибонуклеиновую кислоту, с отношением между азотом и фосфором 3,7—4,2.

**Page Denied**

Next 6 Page(s) In Document Denied

И. М. СИСКАЯН  
Член-корреспондент Академии наук Армянской ССР  
*Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии Наук СССР, Москва*

ЭНЗИМАТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ  
ПЛАСТИД

---

N. M. SISSAKYAN  
Membre correspondant de l'Académie des Sciences  
de la RSS d'Arménie  
*Institut de Biochimie Bach  
de l'Académie des Sciences de l'URSS, Moscou*

SUR LES FONCTIONS ENZYMATIQUES  
DES PLASTIDES

### ЭНЗИМАТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ПЛАСТИД

В исследовании биологических свойств пластид как высоко дифференцированных и специализированных структур протоплазмы можно различать два основных этапа. Первый этап — это почти столетние исследования отдельных сторон природы хлоропластов внутри листовой ткани и, в более недавнее время, изучение изолированных из листьев пигментов. Второй этап, насчитывающий немногим больше десятилетия, посвящен, наряду с исследованиями, продолжающимися в прежнем направлении, изучению изолированных пластид.

В течение первого этапа были получены выдающиеся по своему научному значению данные о физиологической функции хлоропластов — об их участии в процессах фотосинтеза.

В последующем были выделены и изучены пигменты хлоропластов, их химическая природа, основы строения, распространение и свойства, а также были созданы многие теории фотосинтеза и сделаны попытки воспроизвести синтез органического вещества вне растения при помощи хлорофилла. Однако оказалось, что процесс фотосинтеза значительно сложнее, чем предполагалось, и что хлорофилл как каталитическая система является только одним из звеньев лабильной и сложной биокаталитической системы, при помощи которой

осуществляются многообразные превращения в процессе фотосинтеза. В указанной связи возникала настоятельная необходимость исследования химического состава хлоропластов в количественном и качественном отношении, связей и взаимодействия их составных частей, соотношений между формой и функцией пластид, в том числе энзиматической и каталитической функцией. Помимо участия в процессах фотосинтеза, пластиды, повидимому, играют важную роль в процессах дыхания, синтезе белковых веществ и др.

Нашими исследованиями было установлено, что основная масса энзимов растительного организма находится в прочно связанном состоянии с протеидным комплексом пластид. Поэтому, чтобы учесть наличие или общую, суммарную активность того или иного энзима, необходимо нарушить его связь с протеидным комплексом пластид. Оказалось, что связь эту можно нарушить различными путями, а именно: длительным автолизом, созданием высокой осмотической концентрации в окружающем растворе, продолжительным центрифугированием пластид в соответствующих буферных смесях, изменением pH, обезвоживанием, замораживанием и другими воздействиями. В результате указанных выше воздействий существенно нарастает суммарная энзиматическая активность пластид. В зависимости от физиологического состояния и происхождения пластид изменяется эффект перечисленных выше воздействий.

В результате продолжительного автолиза лейко-, хромо- и хлоропластов происходит полный переход всей массы ферментов в свободное состояние.

Оказалось, что скорость перехода ферментов из связанного в свободное состояние, в зависимости от характера пластид и от их происхождения, не одинаково-

ва. Так, в хлоропластах из листьев свеклы главная масса инвертазы переходит в свободное состояние уже в начале автолиза. Примерно аналогичную картину мы наблюдаем в хромопластах моркови и лейкопластах картофеля. Если автолиз способствует переходу гидролитических ферментов пластид из связанного в свободное состояние, то окислительные ферменты иначе реагируют на автолиз. В процессе автолиза активность окислительных энзимов постепенно снижается, и после 72 часов автолиза активность пероксидазы, полифенолоксидазы и цитохромоксидазы полностью исчезает.

Снижение активности некоторых энзимов в процессе автолиза побудило нас прибегнуть к другим, более мягким методам, которые обеспечили бы разрыв связей энзима с протеидным комплексом пластид без нарушения активности самих катализаторов.

Нами было испытано влияние осмотической концентрации на переход энзимов пластид из связанного в свободное состояние. Было установлено, что активность инвертазы пластид под влиянием осмотической концентрации вначале заметно снижается и лишь при создании значительно более высокого осмотического давления существенно повышается. Далее оказалось, что помимо осмотического давления, на выход энзимов из пластид существенное влияние оказывает также и продолжительное центрифугирование пластид в соответствующих буферных растворах.

Весьма существенное влияние на переход ферментов пластид из связанного в свободное состояние оказывает рН среды и характер буфера. Оказалось, что одни и те же ферменты в пластидах различного происхождения далеко не одинаково реагируют на концентрацию водородных ионов в среде. Так, активность инвертазы хлоропластов, изолированных из осенних, начавших



желтеть листьев томатов, после 168 часов автолиза при pH 4,5 не только не повышается, но заметно снижается. В равных условиях совершенно иначе проявляется активность того же энзима как в хлоропластах, так и в лейкопластах сахарной свеклы. Здесь мы наблюдаем нарастание активности инвертазы. Примерно такие же результаты мы получаем и при автолизе при pH 5,0. Необходимо отметить весьма высокую инвертазную активность лейкопластов сахарной свеклы по сравнению со всеми другими видами из испытанных нами пластид. Этот факт приобретает особую важность в связи с характером углеводного обмена свекловичного корня.

Далее оказалось, что переход энзимов пластид из связанного в свободное состояние происходит как в результате разрыва связей энзима с протендным комплексом, так и прямой деструкции пластид при их продолжительном автолизе. Одновременный учет состояния структур в электронном микроскопе и активности энзимов при продолжительном автолизе привели нас к заключению, что наступающая при автолизе деструкция пластид сопровождается резким нарастанием их энзиматической активности. Прямые эксперименты советских биохимиков свидетельствуют о том, что явления связывания энзимов на биологических структурах и переход их в свободное состояние играют исключительную роль в энзиматических процессах образования и превращения веществ.

Для суждения о богатстве отдельных биологических структур энзимами мы провели серию опытов, которые показали, что наибольшая каталитическая активность инвертазы, пероксидазы, полифенолоксидазы, цитохромоксидазы и дегидраз представлена в пластидах, и наименьшая — в соке после удаления пластид.

Совершенно иную картину мы наблюдаем в отношении учета активности фосфорилаз. Активность фосфорилаз в пластидах, в мязге и соке после удаления пластид выражена в значительно более близких соотношениях, чем это мы наблюдаем при учете активности других энзимов. Близость соотношения активности фосфорилаз в пластидах и соке свидетельствует о непрочности связей этого фермента с протейным комплексом пластид.

Особо следует остановиться здесь на дегидразах. Роль биологических структур в проявлении энзиматической активности наиболее ярко обнаруживается при исследовании активности дегидраз. Многочисленные попытки обнаружить дегидразы в пластидах долгое время не приводили к положительным результатам. Оказалось, что в ходе подготовки растительных материалов для изолирования пластид и последующего растирания образующиеся под действием присутствующих там активных оксидаз хиноноподобные вещества полностью инактивируют дегидразы. Лишь при создании условий, исключающих образование подобных веществ, удастся обнаружить активную дегидразу.

После выяснения особенностей состояния энзимов на пластидах нам удалось обнаружить в пластидах целый ряд биокатализаторов. В хлоропластах были обнаружены: 1) пероксидаза, 2) полифенолоксидаза, 3) цитохромоксидаза, 4) фосфорилаза, 5) фосфоглюкомутаза, 6) протеазы и 7) дегидразы. Кроме того, в лейкопластах и хромопластах были обнаружены амилаза, инвертаза, цитохромоксидаза, полифенолоксидаза, пероксидаза, фосфорилаза и различные дегидразы.

Необходимо отметить, что количество энзимов в пластидах подвергается существенным переменам. Количественные изменения активности энзимов пластид

зависят как от природы растения, так и от его физиологического состояния. Так, например, в растениях-сахаронакопителях (свекла) обнаруживается значительно большая активность инвертазы и меньшая амилазы. В растениях же крахмалонакопителях (картофель) это соотношение изменяется в обратную сторону.

Весьма четко улавливается в пластидах характер тех глубоких биохимических изменений, которые возникают в результате вегетативной гибридизации. Помимо других закономерностей, нам удалось показать, что в хлоропластах томатного растения сорта Гольден в системе дыхательных энзимов в определенный период развития растения отсутствует цитохромоксидаза. В хлоропластах томатного растения сорта Мексиканский 353 в системе дыхательных энзимов, в тот же период развития растения, находится активная цитохромоксидаза. Однако знаменательно то обстоятельство, что в седьмом семенном потомстве вегетативного гибрида Гольден /Мексиканский 353, т. е. в потомстве семян, взятых от плодов Гольден, в хлоропластах мы находим весьма активную цитохромоксидазную систему.

Это обстоятельство свидетельствует, что при вегетативной гибридизации происходят коренные сдвиги биохимического характера, в частности идет перестройка энзимов дыхательной системы, в результате которой в семенном потомстве преобладающей становится та или иная дыхательная система.

Наряду с этим переход растения из стадии покоя в состояние активной жизнедеятельности также приводит к изменению энзиматического баланса пластид. При яровизации происходит миграция части энзимов из пластид на другие элементы.

В исследованиях на сахарной свекле второго года вегетации нам удалось показать, что в процессе гетеро-

трофной жизни происходит усиленный отток энзимов из пластид корней в пластины этиолированных листьев. Когда же лист от гетеротрофного образа жизни переходит к автотрофному, начинается процесс новообразования энзимов в хлоропластах и их отток из листьев в корень.

В свете изложенных фактов нам представляется, что роль протоплазмных структур в явлениях координации энзиматических процессов в живом организме определяется прежде всего различной степенью прочности связей энзимов с протеидным комплексом пластид.

В результате прочного связывания гидролитических энзимов на биологических структурах создается одно из тех необходимых условий, которые обеспечивают смещение реакции в сторону синтеза веществ. Обратимость процесса связывания, в зависимости от физиологического состояния организма, обеспечивает свойственную каждому виду растения последовательность протекания энзиматических процессов.

Совокупность экспериментальных данных свидетельствует о том, что пластины представляют собой «депо» биокатализаторов, последовательно вовлекающихся в процессы обмена веществ в ходе индивидуального развития организма.

Координированность энзиматических реакций в биологическом обмене веществ создается благодаря явлению связывания и освобождения энзимов в пластидах и изменению этих свойств в процессе развития организма.

Наряду с этим исключительное богатство пластид различными энзимами показывает также, что на этих структурных образованиях происходит не только связывание энзимов, но возможно и образование каталитических белков.

**Page Denied**

Next 8 Page(s) In Document Denied

Академик А. И. ОПАРИН

**ИЗМЕНЕНИЕ  
ДЕЙСТВИЯ ЭНЗИМОВ  
В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ  
ПОД ВЛИЯНИЕМ ВНЕШНИХ  
ВОЗДЕЙСТВИЙ**

---

**A. I. OPARINE**

*De l'Académie des Sciences de l'URSS*

**VARIATIONS  
DE L'ACTIVITÉ DES ENZYMES  
DANS LA CELLULE VÉGÉTALE  
SOUS L'EFFET  
DES FACTEURS EXTÉRIEURS**

---

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

Москва — 1952



STAT

**Page Denied**

*Академик*  
А. И. ОПАРИН

ИЗМЕНЕНИЕ  
ДЕЙСТВИЯ ЭНЗИМОВ  
В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ  
ПОД ВЛИЯНИЕМ  
ВНЕШНИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

*Доклад*  
*на втором Международном биохимическом конгрессе*  
*Париж, 1952*

---

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР  
Москва — 1952

---

---

**ИЗМЕНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭНЗИМОВ  
В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ  
ПОД ВЛИЯНИЕМ ВНЕШНИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ**

Общеизвестно, насколько широко растения под влиянием многочисленных внешних воздействий изменяют не только свой внешний вид, но и химический состав. Географические посевы, уже в течение многих лет осуществляемые в Советском Союзе, показывают, что растения одного и того же генетического происхождения в разнообразных климатических условиях широко варьируют в отношении многих своих свойств. При этом, наряду с количественным изменением содержания углеводов, жиров, белков, витаминов, эфирных масел, дубильных веществ и алкалоидов, глубоко изменяется и их качественный состав — уменьшается или увеличивается непредельность жирных кислот, меняется аминокислотный состав белков, в эфирных маслах появляются новые и исчезают обычные для них терпены, дубильные вещества обнаруживают широкое колебание в соотношении катехинов и галлатов.

Вся передовая агротехника в конечном итоге и направлена к тому, чтобы путем воздействия температуры, водного режима, солевого питания и т. д. получить от данного сорта растений наивысший урожай

наилучшего качества. Однако такого рода воздействия обычно осуществляются чисто эмпирически, без достаточно ясного теоретического обоснования.

Каждому биохимику понятно, что в основе указанных выше количественных и качественных изменений лежат те или иные изменения в обмене веществ, но конкретная связь между этими явлениями остается и по сей день почти совершенно не раскрытой.

В настоящее время в Советском Союзе ведутся грандиозные работы по преобразованию живой природы, мы изменяем самый климат нашей страны на огромных территориях и не можем довольствоваться в этой своей работе только эмпирическими данными. Поэтому перед советскими биохимиками встала заманчивая задача теоретически обосновать те изменения, которые претерпевает растение под влиянием внешних воздействий, связать эти изменения со сдвигами, происходящими в обмене веществ растения.

Так как в основе этих сдвигов лежит изменение соотношения скоростей отдельных энзиматических реакций, из которых складывается обмен веществ в живом растении, нам представлялось весьма важным для решения этой задачи изучить изменения каталитической активности энзимов под влиянием разнообразных физических и химических факторов.

В мировой литературе накоплен колоссальный фактический материал по влиянию температуры, актуальной кислотности, окислительно-восстановительного потенциала и т. д. на работу многочисленных энзимов. Но весь этот материал получен при исследовании изолированных из живой клетки индивидуальных энзимов или их смесей. Его легко использовать при работе с автолитическими смесями, например с теми смесями,

с которыми мы имеем дело при переработке растительного сырья в ряде отраслей пищевой и вкусовой промышленности. Повышая кислотность или изменяя редоксипотенциал теста, мы можем исключить вредное для хлебопечения действие  $\alpha$ -амилазы или снизить высокую активность протеиназ; путем соответствующих температурных воздействий можно повлиять на активность гидролаз в пивном заторе или изменить действие оксидаз в ферментирующемся чае или табаке. Таким образом, в этом случае энзимологические данные могут быть широко использованы нами для научно обоснованного управления технологическими процессами.

Напротив, непосредственное перенесение этих данных на действие энзимов в живом организме приводит к ряду противоречий. Так, например, уже давно известно, что серный эфир, этилен и т. п. вещества, взятые в очень небольших концентрациях, не оказывают почти никакого действия на изолированные энзимы. Но воздействие этих веществ на живые растительные объекты приводит к глубокому изменению обмена, например к ускоренному созреванию плодов, причем нетрудно убедиться, что это связано с резким изменением скорости энзиматических реакций. Точно так же не поддается объяснению, с точки зрения данных, полученных с изолированными энзимами, резкое усиление их гидролитической активности при завядании растений, при воздействии низких и высоких температур, ряда солевых смесей и т. д.

Как показали наши исследования, это противоречие определяется тем, что в живой клетке действие энзимов в очень сильной степени зависит от способности протоплазмальных структур связывать их на своей поверхности. Всякое воздействие, которое мы стремимся

оказать на активность энзимов в живой клетке, прежде всего сказывается в изменении указанной связывающей способности, которая очень чувствительна к различного рода влияниям. Поэтому нередко уже весьма незначительные воздействия, которые сами по себе не оказывают почти никакого влияния на изолированные энзимы, коренным образом изменяют активность этих катализаторов в живых растительных тканях.

Большому коллективу научных работников Института биохимии Академии Наук СССР (Опарин, Курсанов, Сисакян, Рубин и др.) удалось до известной степени выяснить указанные выше отношения благодаря применению следующих трех основных методов.

1. Метод вакуум-инфильтрации, позволяющий быстро вводить в живую растительную ткань растворы различных веществ и количественно измерять скорость их энзиматических превращений в неповрежденной клетке как в направлении распада, например, гидролиза этих веществ, так и в направлении их синтеза.

2. Метод количественного определения способности живых растительных тканей аккумулировать из водных растворов разнообразные энзимы и фиксировать их на протоплазмических структурах.

3. Метод фракционированного выделения более или менее неповрежденных протоплазмических структур из растительных клеток и детального изучения состояния энзимов на этих образованиях.

Рис. 1 демонстрирует установленные в наших опытах отношения. Здесь приведены кривые, характеризующие изменения способности протоплазмических структур связывать инвертазу (кривая 1) и изменения скорости синтеза (кривая 2) и гидролиза (кривая 3) сахарозы, наступающие в листе сахарной свеклы при воздействии



на него паров серного эфира, взятого в концентрациях, еще не оказывающих какого-либо заметного действия на активность изолированных энзимов.

Мы видим, что вначале, при очень слабых концентрациях эфира, повышение их вызывает увеличение связывающей способности протоплазмальных структур.

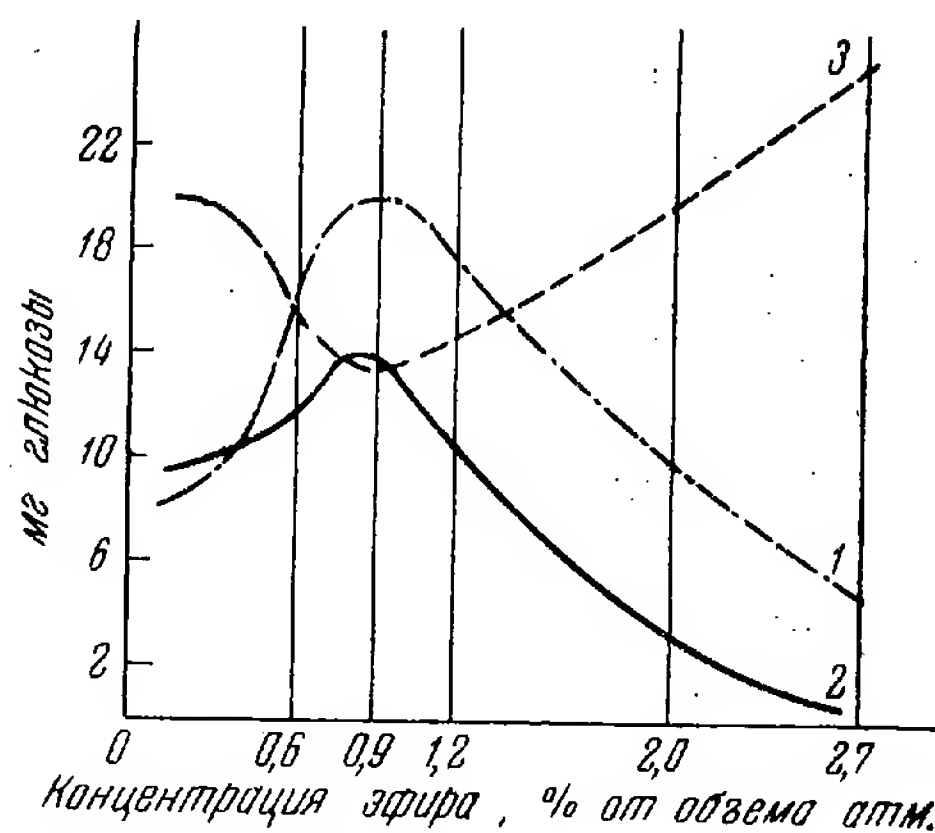


Рис. 1. Влияние серного эфира на связывание энзимов и на синтез и гидролиз сахарозы в листьях сахарной свеклы: 1 — связывание инвертазы; 2 — синтез сахарозы; 3 — гидролиз сахарозы

Но затем, когда протоплазма из стадии «возбуждения» переходит в стадию «расслабления», она теряет способность связывать ферменты, что видно по резкому падению кривой (1) в правой части рисунка.

Почти параллельно этой кривой идет и кривая 2, характеризующая изменение скорости синтеза сахарозы, тогда как гидролиз этого соединения претерпевает при нарастании концентрации эфира прямо противоположное изменение. Вначале его скорость падает,

а затем, при более значительных концентрациях, резко возрастает (3).

Такого рода соотношения между связывающей способностью протоплазмы и энзиматическим синтезом и гидролизом весьма типичны. Они были установлены многочисленными опытами, проведенными нами с различными энзимами (инвертазой, амилазой,  $\beta$ -глюкозидазой, протейназами, эстеразами и т. д.) на самых разнообразных растительных объектах. Всякий раз, как под влиянием тех или иных внутренних причин или внешних воздействий изменяется связывающая способность протоплазмальных структур, параллельно с этим идет изменение скорости синтеза полиоз, белков и т. д. Наоборот, скорость гидролиза изменяется при этом в прямо противоположном направлении. Таким образом, связывающая способность протоплазмальных структур имеет решающее значение в определении скорости и направленности энзиматических реакций в живой клетке.

Эту способность нельзя рассматривать только как простую адсорбцию. Она имеет гораздо более сложный биологический характер и ее величина зависит от всей жизнедеятельности клетки, в особенности от интенсивности энергетического обмена (дыхание или брожение).

Различные виды и сорта растений, а также их различные органы проявляют неодинаковую способность связывать тот или иной энзим, чем нередко можно объяснить их физиологические и хозяйственно важные особенности.

Так, например, способность связывать инвертазу гораздо более ярко выражена у корня сахарной свеклы, чем у корня полусахарной, а тем более кормовой

Капуста сорт № 1, в листьях которой вообще не образуется сахарозы, полностью лишена способности связывать инвертазу. Сорта гороха сахаристого и белковистого направления проявляют в созревающих семенах различную связывающую способность по отношению к инвертазе и протеиназе, и т. д.

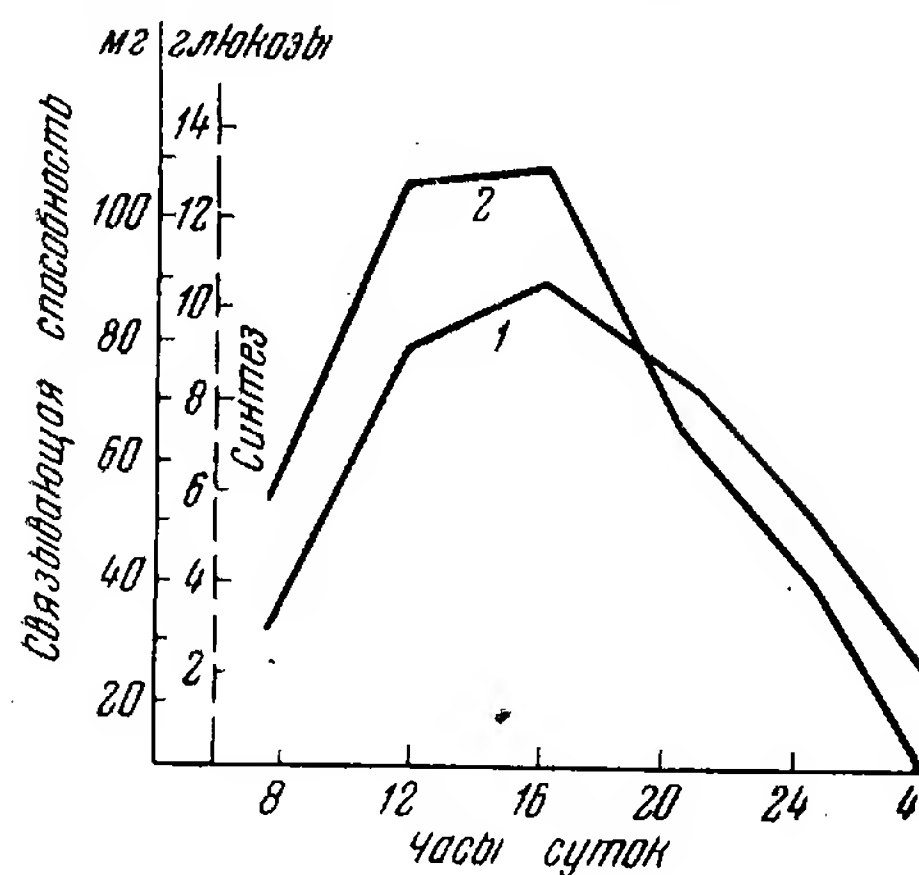


Рис. 2. Суточная изменчивость способности связывать инвертазу и синтеза сахарозы в листьях: 1 — связывающая способность; 2 — синтез сахарозы

Вместе с тем, во всех исследованных нами растениях связывающая способность изменяется в течение онтогенетического развития растения (о чем я имел случай докладывать здесь, в Париже, на заседании Французского общества биохимиков). Эта способность, кроме того, претерпевает постоянные суточные, возрастные и сезонные колебания. Так, например, на рис. 2 показаны результаты определения способности протоплазмы листа сахарной свеклы связывать инвертазу в различные часы суток. Как видно на этом рисунке,

связывающая способность (кривая 1) резко уменьшается в ночные и утренние часы и нарастает в полдень. Параллельно с этим изменяется и скорость энзиматического синтеза сахарозы в листе (кривая 2).

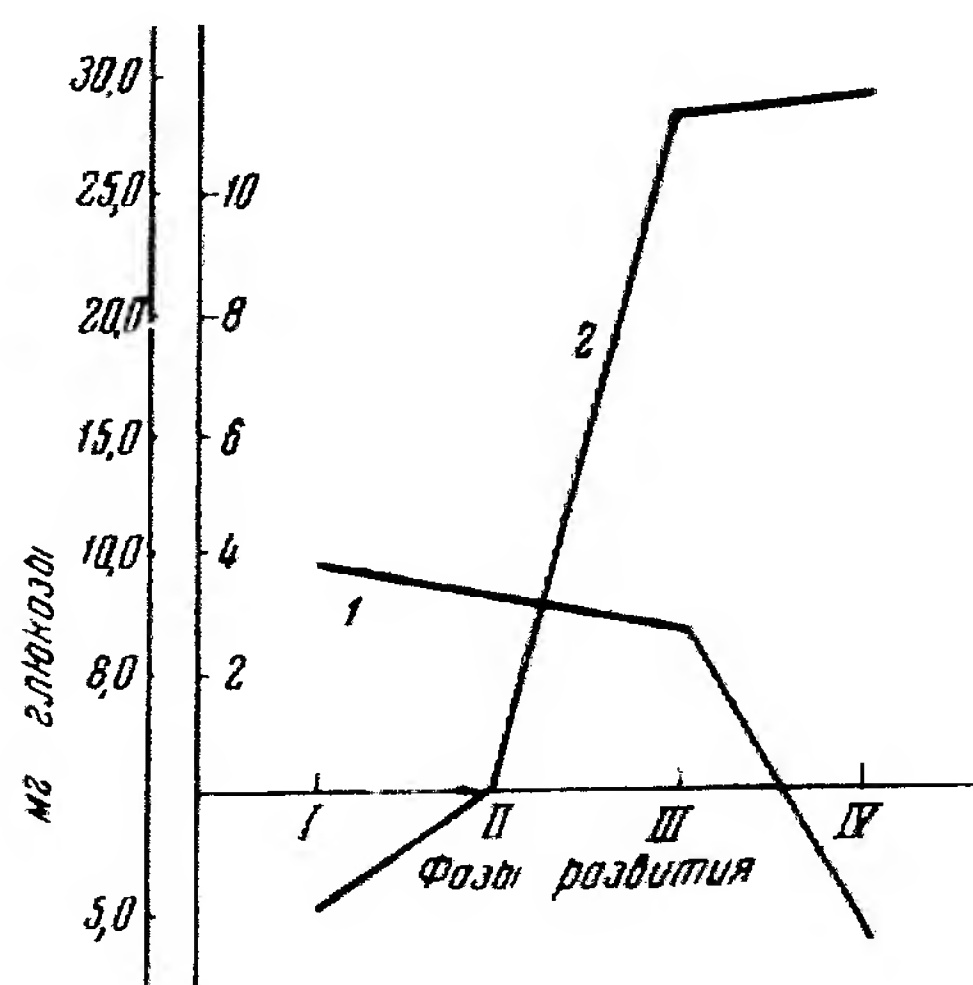


Рис. 3. Изменение способности связывать инвертазу в вегетативных и репродуктивных органах в ходе развития растений. Фазы развития: I — начало молочной спелости; II — молочная спелость; III — начало восковой спелости; IV — восковая спелость; 1 — для листа; 2 — для зерна

На рис. 3 показаны изменения связывающей способности по фазам развития в листьях (1) и семенах гороха (2). Мы видим, что по мере прохождения стадий молочной и восковой спелости все время увеличивается способность семян связывать инвертазу; в то же самое время листья стареют и теряют эту способность настоль-

ко, что при последнем определении они не только не поглощали энзима из раствора, а, наоборот, отдавали в раствор собственную инвертазу. Но наряду с колебаниями связывающей способности, происходящими в зависимости от генетической природы и стадии развития того или иного растительного объекта, величина указанной способности может очень существенно изменяться и под влиянием разнообразных внешних воздействий. При этом у разных сортов и видов, и на разных стадиях жизненного цикла, тот или иной растительный объект может в этом отношении проявлять большую или меньшую податливость, что соответствующим образом сказывается на скорости энзиматического синтеза и распада различных веществ в живой клетке.

Одним из важнейших условий внешней среды, вызывающих не только количественные, но и качественные изменения в процессах обмена веществ, является температура. На рис. 4 показаны скорости гидролиза (1) и синтеза (2) сахарозы в листьях цикламена при различных температурах: от  $-10$  до  $+50^{\circ}$ . Как видим, прерывистая кривая (1), изображающая зависимость гидролитического действия инвертазы в живом листе от температуры, коренным образом отличается от обычной логарифмической кривой, которую мы получаем при работе с растворами изолированной инвертазы. В листе наблюдаются резкие отклонения от плавного хода кривой в районах низких и высоких температур. Это зависит от того, что при этих температурах существенно изменяется связывающая способность протоплазменных структур. Для листа цикламена она значительно возрастает около  $+5$  и  $+40^{\circ}$ , что, как и в случае с эфирным воздействием, приводит к падению

гидролиза и парастанию синтеза сахарозы (см. кривую 2).

Небольшое дальнейшее увеличение температуры (за пределы 40°) вызывает уже почти полную потерю листом связывающей способности и, как мы видим в правой части рис. 4, в этих условиях синтез почти

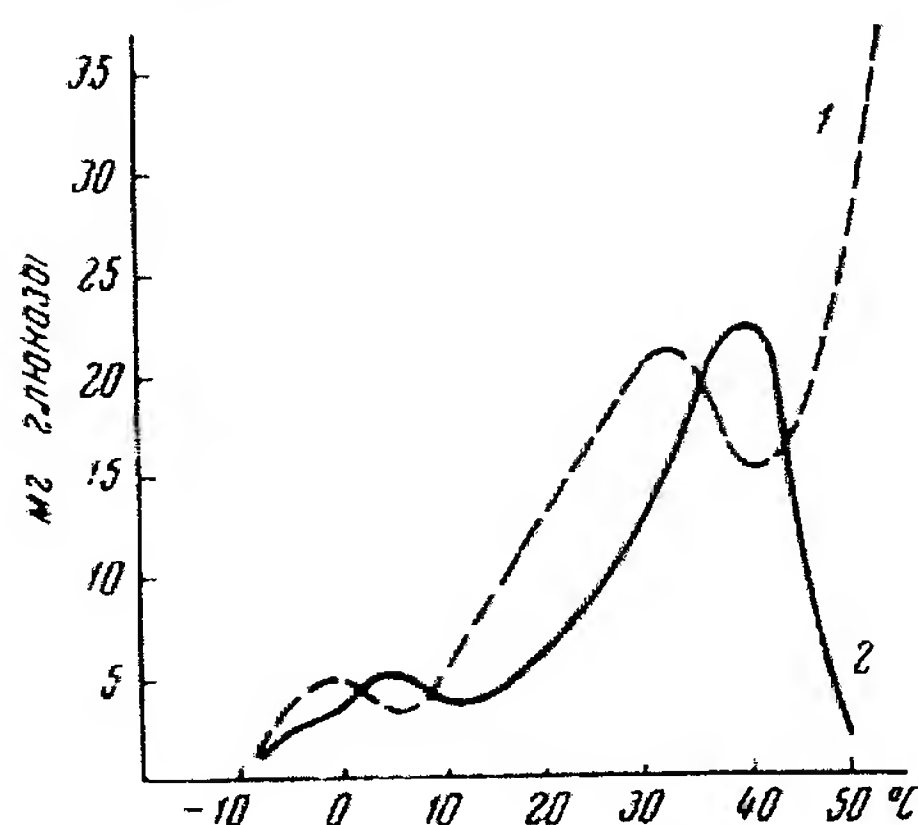


Рис. 4. Изменение скорости гидролиза и синтеза сахарозы в листьях цикламена при различных температурах: 1 — гидролиз; 2 — синтез

полностью исчезает, а кривая гидролиза круто поднимается. Такое нарушение соотношений между синтезом и гидролизом не только сахарозы, но и белковых веществ приводит к роковым для растения последствиям — к необратимому распаду протоплазмы.

Аналогичные явления можно наблюдать и при низких температурах, но цикламен в этом отношении менее показателен, чем некоторые теплолюбивые растения. Для примера мы приводим здесь рис. 5, представляющий соотношение скоростей гидролиза (1) и синтеза (2)



сахарозы в листьях хинного дерева *Cinchona Ledgeriana*, которое из условий температуры  $22^{\circ}$  было на 3 часа помещено в камеру с температурой  $0^{\circ}$  и затем перенесено в прежние условия. Мы видим, что при этом растение необратимо теряет нормально свойственное ему соотношение между синтезом и гидролизом, что неминуемо приводит к гибели этого вида *Cinchona* при

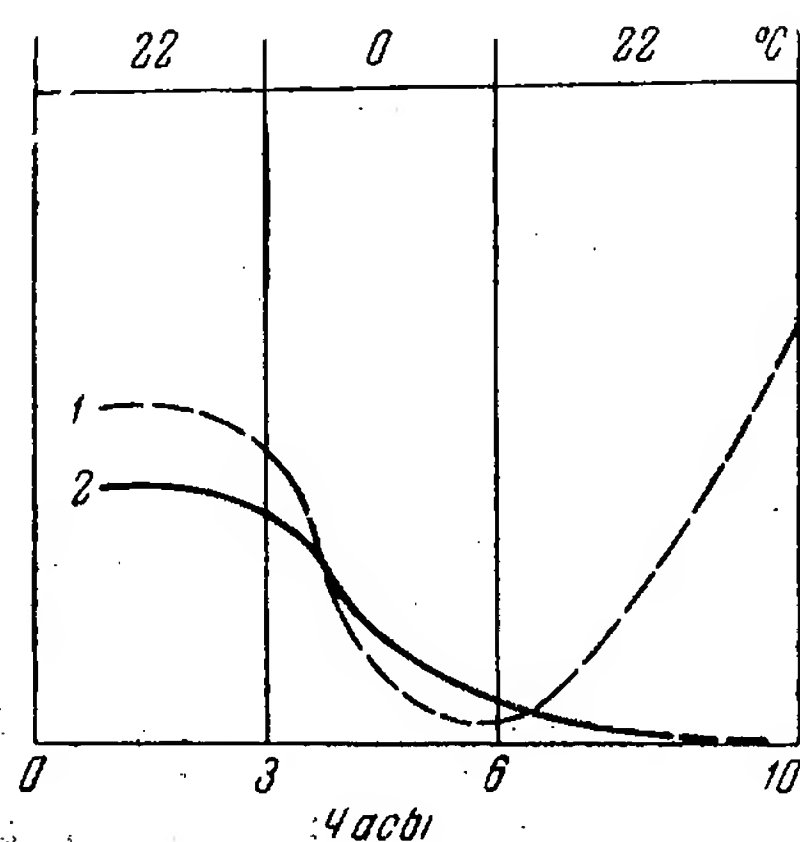


Рис. 5. Изменение скоростей гидролиза и синтеза сахарозы при различных температурах в листьях *Cinchona Ledgeriana*: 1 — гидролиз; 2 — синтез

охлаждении его до  $0^{\circ}$ . Напротив, более устойчив *Cinchona succirubra*, у которого хотя в первые моменты охлаждения энзиматическое равновесие и смещается, но затем, при перенесении в теплое помещение, вновь восстанавливается.

В качестве другого объекта исследования можно привести различные сорта яблонь. На рис. 6 показаны те соотношения гидролиза (1) и синтеза (2) сахарозы;

которые обнаруживаются при различных температурах в листьях не зимостойчивого сорта Кандиль-Китайка, а на рис. 7 — для зимостойчивого сорта Борсдорф-Китайка. Мы видим, что перекрещивание кривых синтеза и гидролиза происходит в первом случае еще при положительных температурах и при  $-10^{\circ}$  листья сорта Кандиль-Китайка вообще теряют всякую способ-

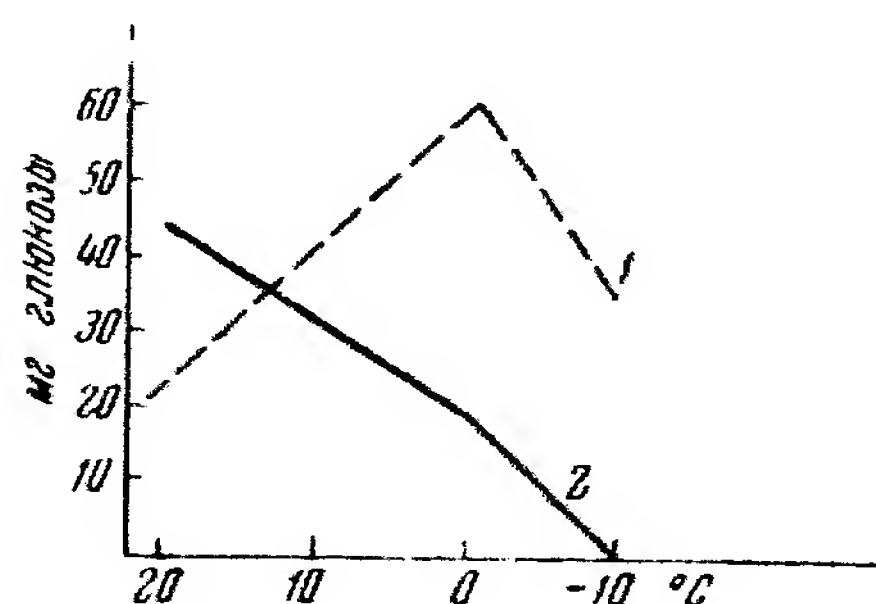


Рис. 6. Изменение скоростей гидролиза и синтеза сахарозы при различных температурах в листьях яблони сорта Кандиль-Китайка: 1—гидролиз; 2—синтез

ность синтезировать сахарозу. Напротив, во втором случае гидролиз начинает преобладать над синтезом только при отрицательных температурах и при  $-10^{\circ}$  еще вполне возможен синтез сахарозы. То же явление мы обнаруживаем и в отношении синтеза и гидролиза белков в указанных нами объектах.

Широкое изучение влияния температуры на связывающую способность клеточных структур и на происходящие в связи с этим изменения соотношений энзиматического синтеза и гидролиза в различных растительных объектах позволило нам не только легко

диагностировать холодо- и жароустойчивость растений, но и делать прогнозы при их акклиматизации, а также при различных сроках посева и посадки, например, при летних посадках картофеля, проводимых по методу академика Лысенко в целях борьбы с вырождением картофеля на юге.

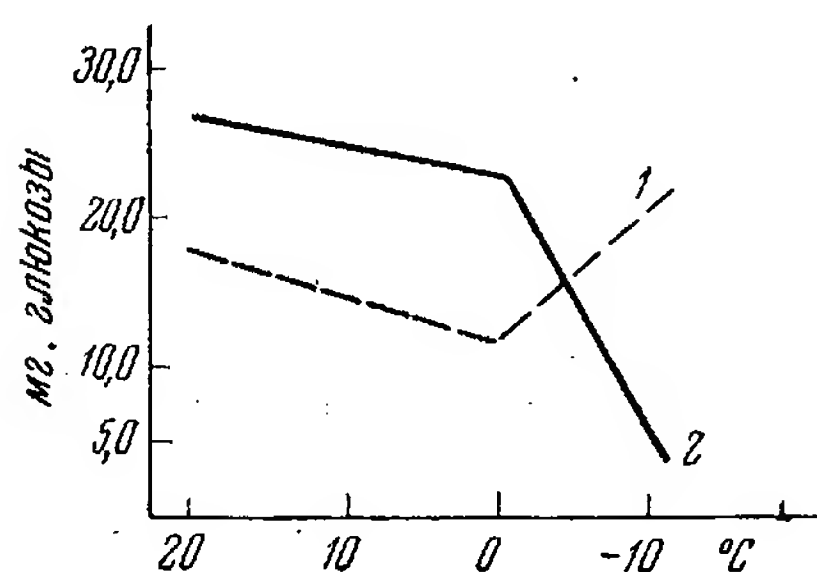


Рис. 7. Изменение скоростей гидролиза и синтеза сахарозы при различных температурах в листьях яблони сорта Боредорф-Китайка: 1 — гидролиз; 2 — синтез

Водный режим, так же как и температура, оказывает глубокое влияние на соотношение совершающихся в растении энзиматических процессов синтеза и распада белковых веществ, углеводов, фосфорорганических соединений и т. д. На рис. 8 мы видим, как изменяется скорость гидролиза сахарозы в листе пшеницы, испытывающем постепенное нарастание водного дефицита. Вначале уменьшение влажности листа с 90 до 83% (его естественная влажность) вызывает падение скорости гидролиза, а затем, при дальнейшем испарении воды, гидролиз начинает резко нарастать.

Конечно, ничего подобного мы не наблюдаем при работе с простыми водными растворами инвертазы.

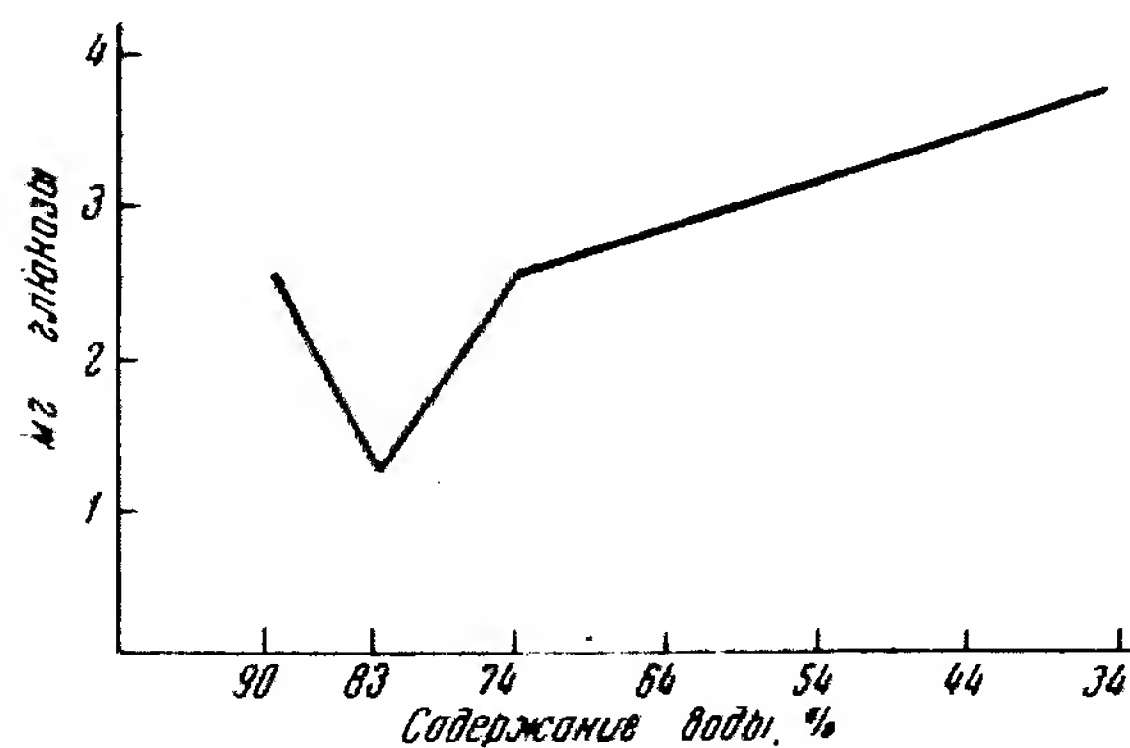


Рис. 8. Изменение скорости гидролиза сахарозы в листе сахарной свеклы при разном содержании в нем воды

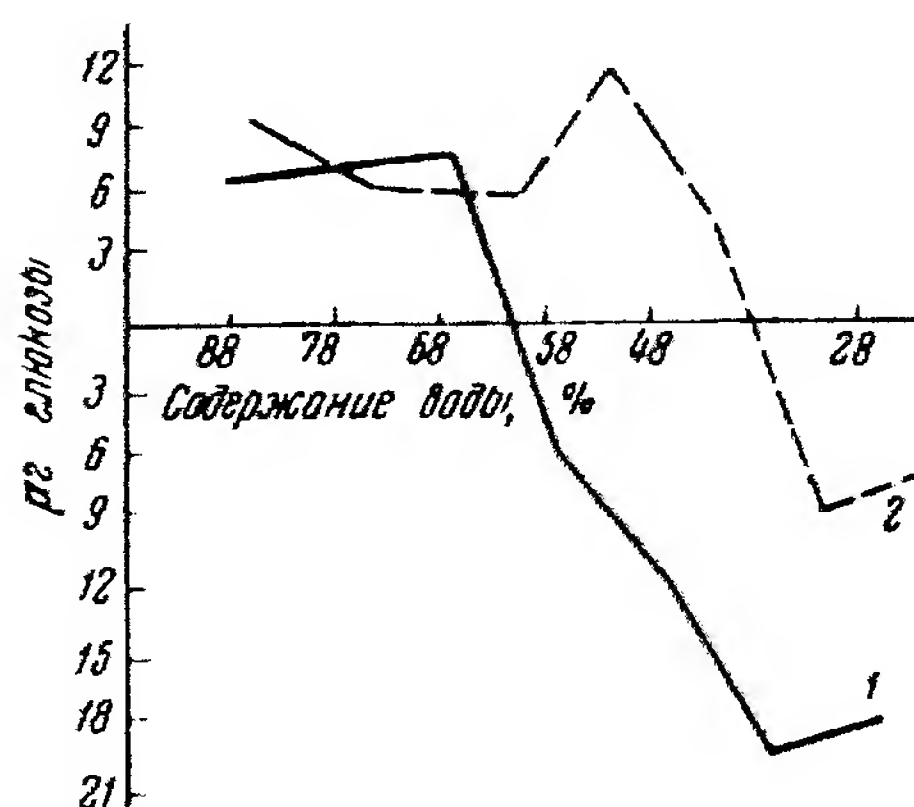


Рис. 9. Изменение свлявающей инвертазы способности при нарастании водного дефицита в проростках незасухоустойчивого (1) и засухоустойчивого (2) сорта пшеницы

Приведенное здесь явление находит свое объяснение только при изучении связывающей способности протоплазмы. Эта способность является наивысшей лишь при определенном содержании воды в листьях и резко падает при уменьшении этого количества. Для различных растительных видов и сортов высокое положение связывающей способности может сохраняться при различной величине водного дефицита. Это можно видеть на рис. 9, где сплошная линия 1 показывает изменение связывающей способности при постепенном уменьшении влажности в проростках незасухоустойчивого сорта пшеницы № 28850, а прерывистая линия 2 — для засухоустойчивого сорта Флора № 5. Мы видим, что резкое падение кривой в первом случае начинается при 68% воды, а во втором только при 53%, т. е. при гораздо более глубоком водном дефиците.

В полном соответствии с изменением связывающей способности изменяются и соотношения между ферментатическим синтезом и гидролизом полиов, белков и других веществ в живой клетке. На рис. 10 представлено изменение отношения синтеза к гидролизу для сахарозы, а на рис. 11 — для белковых веществ. На обоих рисунках кривая 1 характеризует указанные

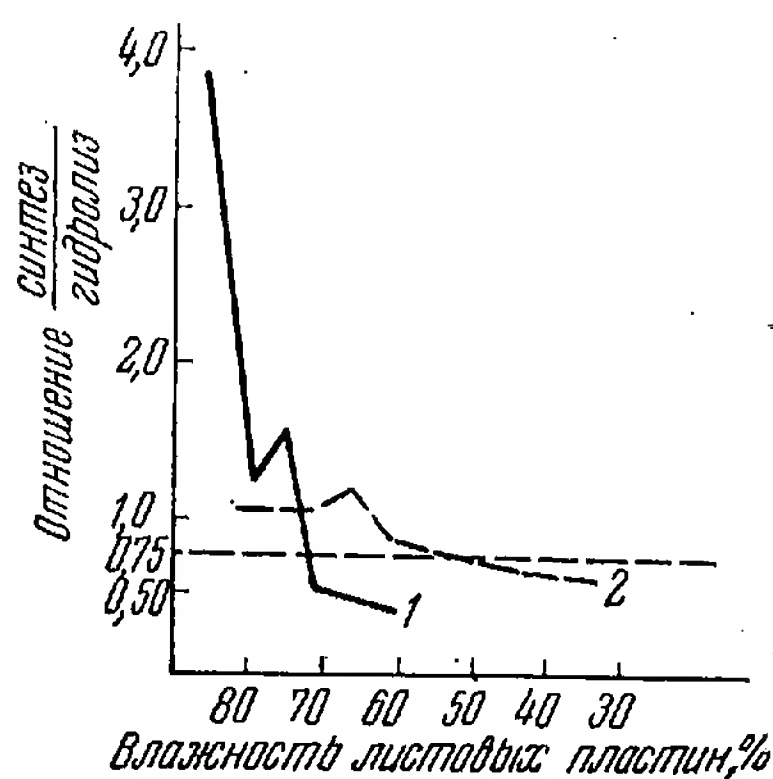


Рис. 10. Отношение синтеза/гидролиз у листьев пшениц при увеличивающейся засухе: 1—сорт Маркиз; 2 — Лютеценс 62

отношения для незасухоустойчивого сорта пшеницы Маркиз, кривая 2 — для засухоустойчивого сорта Лютеценс 62. Как видно из приводимых рисунков, у сорта Маркиз, первоначально обладающего очень высоким отношением синтеза к гидролизу, при

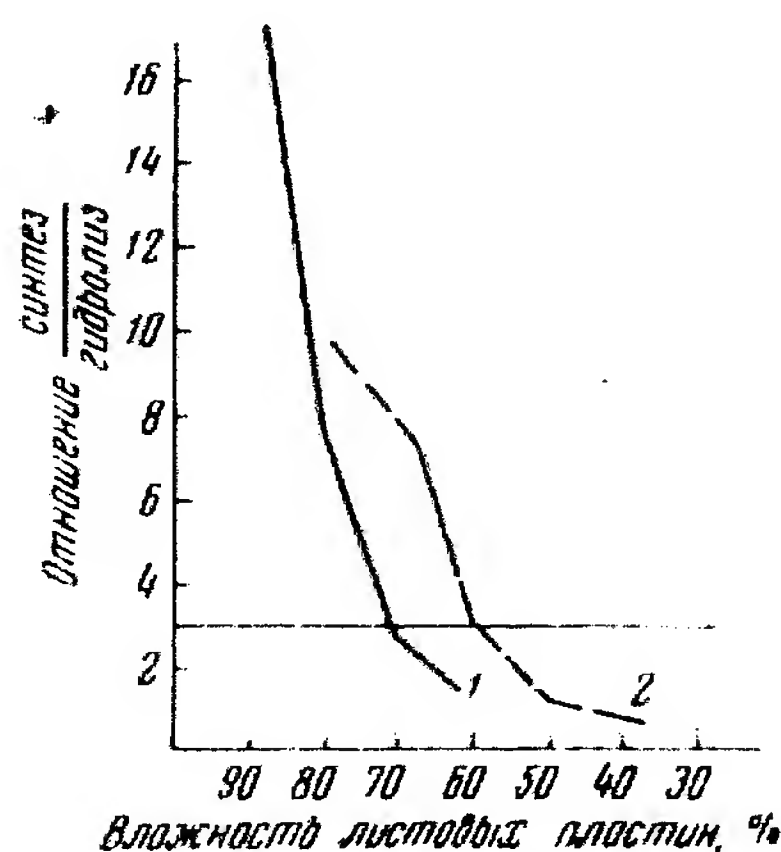


Рис. 11. Отношение ферментативного синтеза к гидролизу белковых веществ у листьев пшеницы при увеличивающейся засухе: 1 и 2 — как на рис. 10

понижении влажности листа это отношение резко снижается и при 30%-ном дефиците воды переходит границу (обозначенную на рисунках горизонтальной линией), после которой растение уже не способно восстанавливать свойственное ему энзиматическое равновесие даже после обильного полива. Таким образом, оно теряет способность к нормальному обмену веществ и неизбежно погибает вследствие саморазложения.

В противоположность этому, засухоустойчивая пшеница Лютеценс 62, которая, хотя и не обладает первоначально высоким отношением синтеза к гидролизу, значительно лучше его сохраняет и поддается губительным изменениям лишь после потери более 40% водного запаса.

Эти и аналогичные им наблюдения позволяют нам сделать ряд выводов, имеющих важное значение для создания рациональных форм полива и для диагностики



засухоустойчивости сельскохозяйственных растений.

Солевое питание растений уже в течение многих десятилетий используется в практике сельского хозяйства как действенный прием увеличения урожая и улучшения его качества. Но еще недавно вносимые с удобрением соли рассматривались только как источник элементов, необходимых растению для построения его живой массы. Между тем поступающие в живую клетку соли, их концентрация, а в особенности соотношение отдельных элементов, входящих в солевую смесь, не могут не влиять на самый характер обмена веществ, изменяя соотношение скоростей отдельных энзиматических реакций.

Однако это изменение, влияние отдельных ионов и их смесей на действие энзимов реализуется в живой клетке совсем иначе, чем это наблюдается в простых водных растворах изолированных энзимов. В живой клетке солевые смеси прежде всего изменяют состояние протоплазматических структур, в одних случаях увеличивая, в других ослабляя их способность связывать различные энзимы. Это действие солей накладывается на то состояние протоплазматических структур, в котором они находятся в данном живом объекте и на данной стадии его онтогенетического развития. Поэтому оно носит очень сложный и специфический характер и совершенно не может быть понято только на основании имеющихся в энзимологической литературе данных, а требует непосредственного изучения на живых объектах.

Для иллюстрации сказанного я приведу опыт, результаты которого изображены на рис. 12 и 13. В этом опыте в ткани листьев яблоки путем инфильтрации

вводился 0,3-молярный раствор хлористого калия. По прошествии нескольких часов в этих листьях и, параллельно, в контрольных листьях, предварительно инфильтрированных только водой, определялась их синтезирующая способность в отношении сахарозы (рис. 12) и белков (рис. 13). На рисунках данные, полученные в опытах, обозначены кривыми 1, а контрольные данные — кривыми 2. Мы видим, что внесение

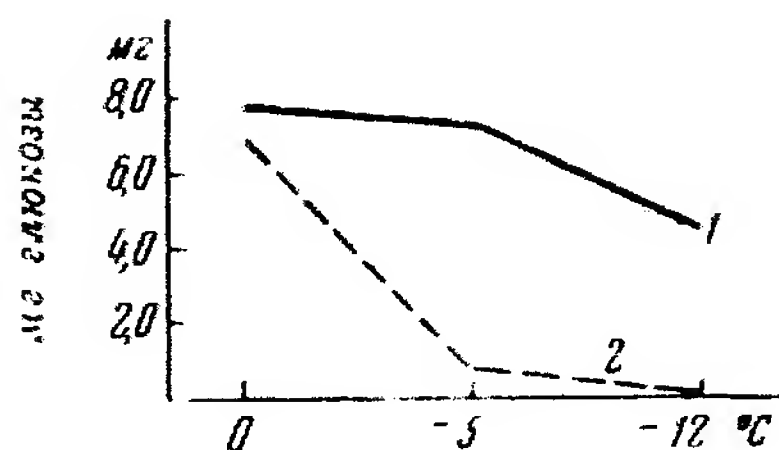


Рис. 12. Синтезирующая способность листьев яблони при различных температурах (синтез сахарозы): 1 — листья инфильтрированы 0,3 М KCl; 2 — листья инфильтрированы водой

хлористого калия существенно не повлияло на синтез сахарозы и белков при 0°, но оно оказало решающее действие на способность листьев осуществлять синтез этих веществ при пониженных температурах. В то время как контрольные листья нацело потеряли эту способность уже при -5°, листья, получившие хлористый калий, продолжали синтезировать сахарозу и белок даже при температуре -12°.

В практике нашего сельского хозяйства широкое применение находит дробное (в несколько приемов) внесение удобрений, так называемая «подкормка» расте-

ний. При этом, внося азотистые, фосфорнокислые и калийные удобрения в их различных комбинациях на разных стадиях жизненного цикла растений, мы можем смещать соотношения между ферментативным синтезом и гидролизом в данном органе растений на данной стадии его развития в нужном нам направлении.

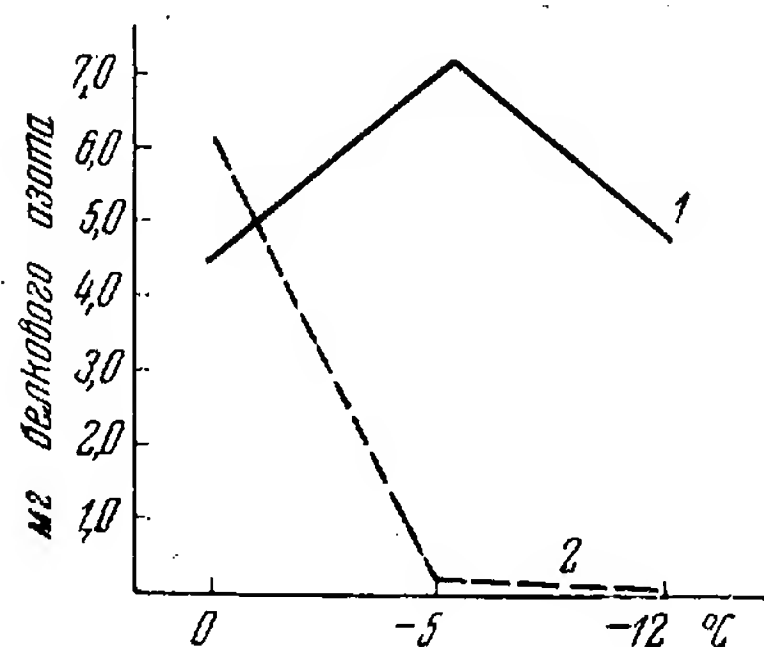


Рис. 13. Синтезирующая способность листьев яблони при различных температурах (синтез белка): 1 и 2 — как на рис. 12

Так, например, в начале развития листа важно поднять в нем синтетические процессы, а на более поздних стадиях, наоборот, полезно усилить в нем гидролиз, чтобы способствовать оттоку пластических веществ в репродуктивные органы. Наши наблюдения показали, что калийные удобрения увеличивают связывающую способность протоплазмы и повышают синтезирующее действие ферментов. Кальций действует в обратном направлении, снижая связывающую способность и усиливая гидролиз.

Особенно интересные результаты удалось получить советским биохимикам и агрохимикам при расчленен-

ном внесении элементов минерального питания, по ходу развития, при культуре витаминных, алкалоидоносных и эфиромасличных растений. Так, например, продуктивность растений, у которых эфирное масло добывается из вегетативных органов (мята, герань, базилик), может быть повышена на 40—70% внесением азота накануне их цветения. Внесение солей фосфорной кислоты в этот период, наоборот, ускоряет старение листьев и ослабляет процесс синтеза эфирного масла. У растений, эфирное масло которых добывается из семян (кориандр, анис и др.), внесение азота во второй половине вегетации задерживает цветение, а также созревание семян и резко уменьшает выход эфирного масла на 30—50%. Приведенные факты находятся в соответствии с нашими данными.

Весьма эффективным оказывается воздействие на растительные объекты некоторых поверхностно-активных веществ, вызывающих, как мы уже указывали, изменение связывающей способности протоплазматических структур и обуславливающих вследствие этого глубокие сдвиги в соотношении скоростей энзиматических реакций в живой клетке. Эти явления лежат в основе процесса созреваия плодов, регулирования состояния покоя и прорастания растений и т. д.

Изменения энзиматических реакций обмена веществ под влиянием перечисленных внешних воздействий являются обратимыми в том случае, если этим воздействиям подвергались взрослые растительные ткани и они не заходили настолько далеко, чтобы привести к гибели эти ткани. В этом случае снятие воздействия возвращает растительный объект к первоначальному его состоянию, не вызывая какого-либо принципиального последствие.

Иначе дело обстоит, когда мы осуществляем наши воздействия на меристематические ткани или на растительные объекты, наследственная природа которых расшатана тем или иным путем. В этих случаях те сдвиги в обмене веществ, которые произошли под влиянием внешних воздействий, могут сохраняться и после спятия этих воздействий, в течение всего

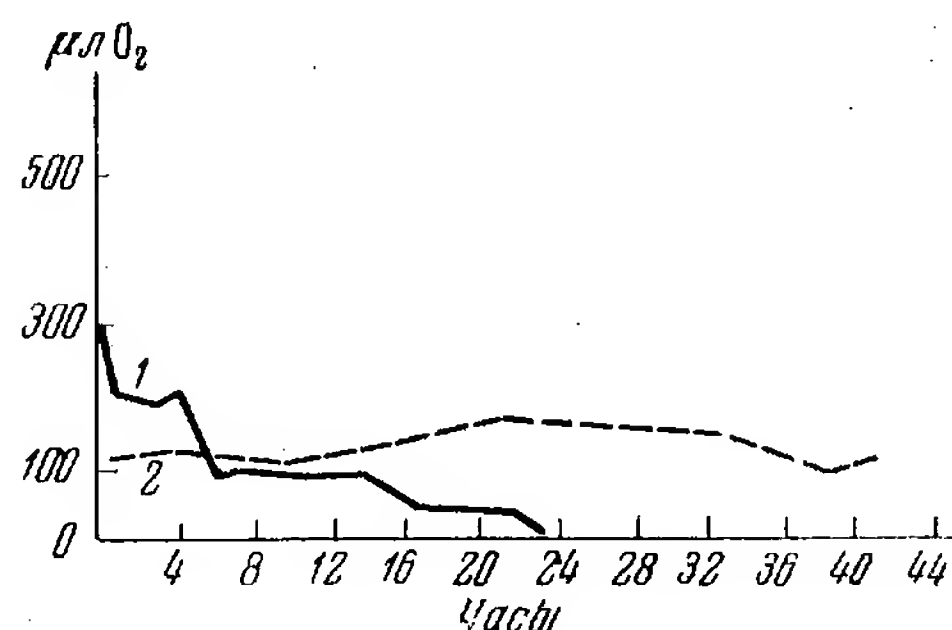


Рис. 14. Характер изменения активности цитохромоксидазы и аскорбиноксидазы в процессе яровизации ячменя: 1 — активность цитохромоксидазы; 2 — активность аскорбиноксидазы

последующего развития данного растения, а при известных условиях приобретают даже наследственный характер.

Именно эти явления лежат в основе яровизации и вегетативной гибридизации — приемов воздействия на растения, получивших такое широкое распространение в нашей стране.

Изучение энзиматических процессов в ходе яровизации показало, что активность многих энзимов при этом закономерно изменяется. В частности, это можно сказать в отношении энзимов, участвующих в дыхании.

Как показано на рис. 14, в первые дни яровизации решающая роль в процессе дыхания зародыша принадлежит цитохромной системе. Однако на более поздних этапах яровизации злаковых культур активность цитохромоксидазы (и сукциндегидразы) заметно снижается, а в некоторых случаях полностью исчезает. В то же время по ходу яровизации возрастает значение таких энзимов, как аскорбиноксидаза (и дегидразы лимонной и яблочной кислоты), которые ранее или играли подчиненную роль или даже полностью отсутствовали. Таким образом, при яровизации, наряду со снижением активности одних энзимов вплоть до полного их исчезновения, происходит новообразование или активирование других энзимных систем.

Воздействие, оказываемое в процессе яровизации на меристематические ткани зародыша, изменяет связывающую способность протоплазматических структур и приводит к существенным сдвигам соотношения скоростей синтеза и гидролиза сахарозы, белков и т. д. В частности, в яровизированных проростках озимых сортов пшеницы мы находим то же самое отношение между синтезом и гидролизом, которое характерно для наследственно яровых сортов; оно здесь смещено по отношению к озимым в сторону гидролиза. Но, что особенно важно, — этот сдвиг сохраняется и в листьях взрослого растения на всем протяжении его вегетации. То же наблюдается и в отношении хлопчатника, яровизация которого осуществляется при воздействии не низких, а высоких температур.

Вегетативная гибридизация, как показали исследования советских ученых, является физиолого-биохимическим процессом, в результате которого происходит расшатывание сложившегося обмена веществ у исход-



ных гибридных компонентов и возникновение нового обмена у привитых растений. Наши исследования, проведенные на томатах, показали, что изменение в обмене веществ у привитых растений выражается прежде всего в смещении скоростей ферментатических реакций, а следовательно, в изменении соотношений

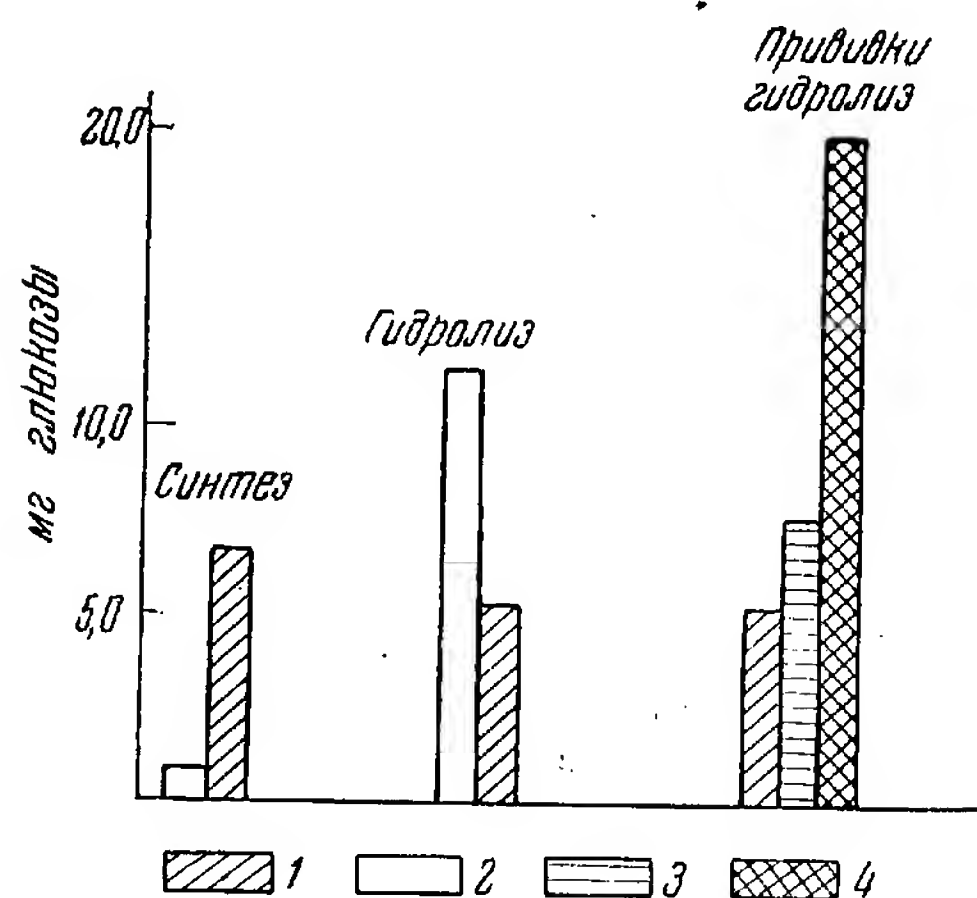


Рис. 15. Синтез и гидролиз сахарозы в листьях томатов сорта Микадо и Золотая Королева и в их прививках: 1 — Золотая Королева; 2 — Микадо; 3 — Золотая Королева, привой; 4 — Золотая Королева, подвой.

между синтезом и распадом, что, в свою очередь, приводит к изменению биохимического состава гибридов и их семенных потомств.

На рис. 15 представлены результаты вегетативной гибридизации между контрастирующими по ряду признаков сортами томатов (Микадо и Золотая Королева). В частности, эти сорта различаются по соотношению синтеза и гидролиза сахарозы. Как это видно на левой

части рисунка, синтез гораздо более ярко выражен в листьях сорта Золотая Королева (косая штриховка), тогда как в листьях сорта Микадо (не заштриховано) преобладает гидролиз. При вегетативной гибридизации обмен веществ у сорта Золотая Королева претерпевает

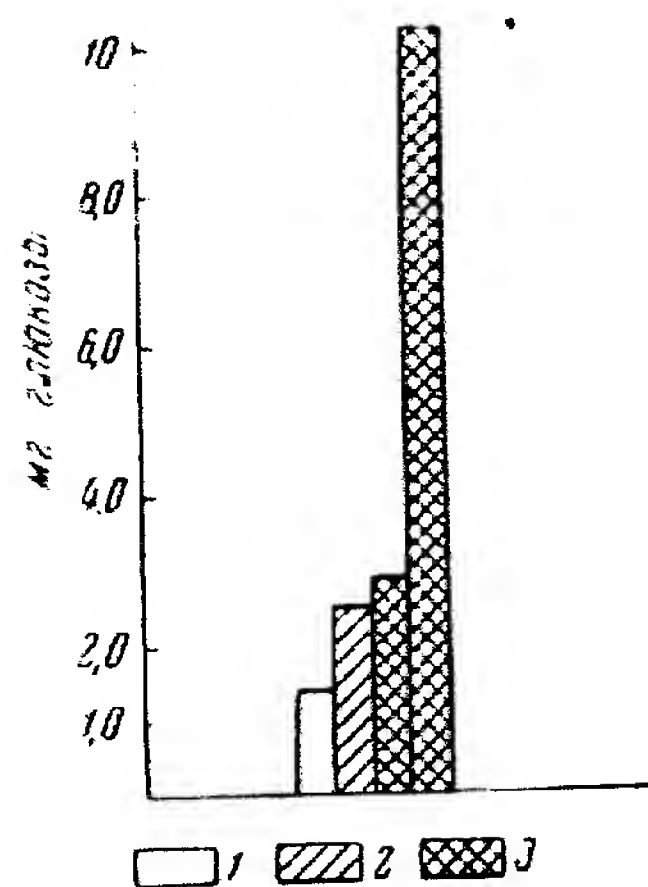


Рис. 16. Энзиматический синтез сахарозы в листьях томатов сорта Микадо и Золотая Королева и в листьях второго семенного потомства их вегетативного гибрида: 1 — Золотая Королева; 2 — Микадо; 3 — второе семенное потомство вегетативного гибрида

глубокое нарушение. Ее листья теряют способность к синтезу сахарозы, тогда как гидролиз этого соединения резко возрастает как в том случае, когда сорт Золотая Королева является привоем, так и тогда, когда она служит подвоем (см. правую часть рисунка).

Обмен у семенного потомства вегетативных гибридов приобретает уже новый характер, иногда коренным образом отличающийся от характера обмена у родительских, исходных форм. Так, например, на рис. 16 показано соотношение синтезирующей способности са-

харозы в листьях растений, взятых для прививки, и их второго семенного потомства. Мы видим, что здесь синтез гораздо более ярко выражен у потомства, чем у того и другого исходного растения. Естественно, что такого рода сдвиги в обмене веществ приводят к тому, что семенное потомство вегетативных гибридов характе-

ризуется существенно измененной сахаристостью, кислотностью, содержанием витаминов, каротина и т. д.

Один из методов направленного изменения природы организмов состоит в прививке стадийно молодого растения с расшатанной наследственностью в кроны стадийно старого дерева. В этом заключается мичуринский метод ментора. Наши исследования показали,

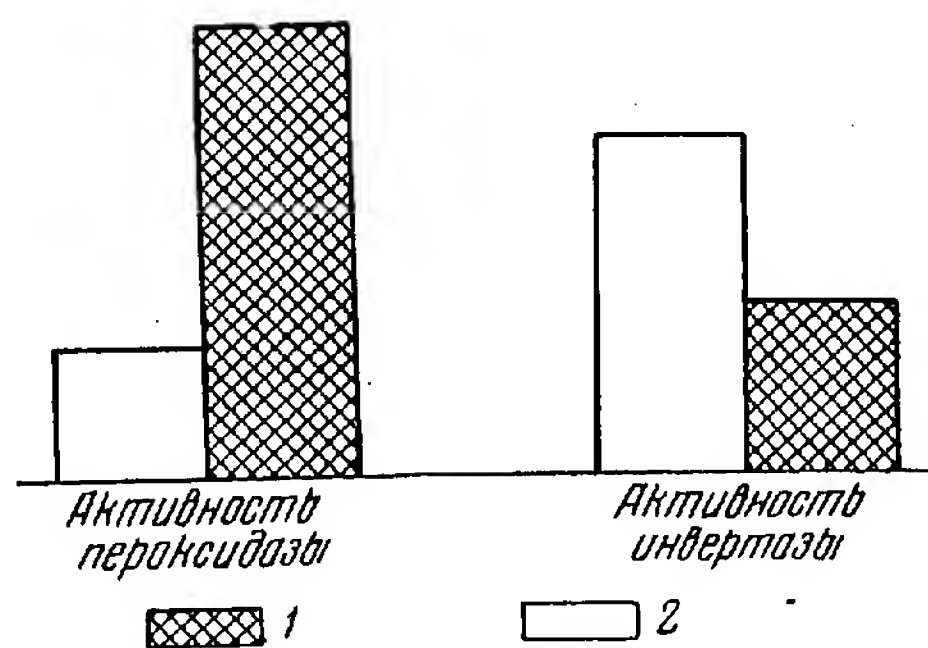


Рис. 17. Влияние ментора на энзиматическую систему организмов с расшатанной наследственностью (среднее для 15 исследованных гибридных сеянцев): 1 — гибридные сеянцы привиты в крону зимнего сорта яблони; 2 — сеянцы привиты в крону летнего сорта

что под влиянием ментора происходит перестройка энзиматического аппарата гибридного сеянца.

Так, например, летние сорта яблони отличаются более низкой активностью пероксидазы и более ярко выраженной гидролитической активностью инвертазы, чем зимние сорта. Как видно из рис. 17, при прививке гибридных сеянцев в крону яблонь зимнего или летнего сорта, сеянцы приобретают ту энзиматическую характеристику, которая свойственна их ментору.

Подводя итоги всему сказанному, я позволю себе выразить надежду, что углубленное изучение энзиматических реакций, совершающихся в живой клетке и составляющих основу обмена веществ, позволит нам еще шире развернуть работу по научно обоснованному преобразованию живой природы для блага человека, для мирной, счастливой жизни всех людей.

+

..

..

..

..

..

..

..

..

..

..

**Page Denied**

Next 30 Page(s) In Document Denied